UNTERSUCHUNG DER NEPHROTOXIZITÄT VON CEFTIZOXIM IN KOMBINATION MIT AZOSEMID ANHAND DER ALANIN–AMINOPEPTIDASE–AUSSCHEIDUNG IM URIN

Patricia Elisabeth Usinger

Diss. Frankfurt a/M.
1984

UNIV.
LIBRARY

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

UNTERSUCHUNG DER NEPHROTOXIZITÄT VON CEFTIZOXIM IN KOMBINATION MIT AZOSEMID ANHAND DER ALANIN-AMINOPEPTIDASE-AUSSCHEIDUNG IM URIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin des Fachbereiches Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Patricia Elisabeth Usinger
aus Eppstein/Ts.

Frankfurt a.M. 1984

DEKAN: Prof. Dr. H. J. Müller
REFERENT: Prof. Dr. A. W. Mondorf
KOREFERENT: Prof. Dr. E. Halberstadt

Tag der mündlichen Prüfung: 26. März 1984

M E I N E N E L T E R N

D A N K S A G U N G

Herrn Prof.Dr.A.W.Mondorf, Leiter der Medizinischen Poliklinik und des Immunbiologischen Labors der Abteilung Nephrologie des Universitätsklinikums Frankfurt am Main, danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für seine freundliche und großzügige Unterstützung.

Frau H.Müller möchte ich ebenso herzlich für ihre Hilfe bei allen technischen Problemen, besonders bei den immunologischen Bestimmungen danken.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S :

EINLEITUNG Seite 1

CHARAKTERISTIKA DER UNTERSUCHTEN PHARMAKA
- Cephalosporine 3
- Ceftizoxim 7
- Azosemid 9

PATHOPHYSIOLOGIE DER ALANIN-AMINOPEPTIDASE 11

PROBANDEN, VERSUCHSABLAUF UND ANALYSEMETHODEN
- Versuchspersonen 15
- Versuchsablauf 17
- Analysemethoden 19

ERGEBNISSE
- Analyse der Leerwerte 23
- Auswertung der 24h-Sammelperioden 26
- Überwanderungselektrophorese 37
- Tagesprofile 38

DISKUSSION
- der Methoden 44
- der Ergebnisse 48

ZUSAMMENFASSENG 55

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538120_0005

E I N L E I T U N G :

Zahlreiche Autoren haben das Auftreten akuter Tubulusnekrosen und daraus resultierender Niereninsuffizienz nach Applikation von Cephalosporinen berichtet (14,15,47,66,85). Um derartige Nebenwirkungen zu erfassen, sollte man die Nierenverträglichkeit der Cephalosporine auch in Kombination mit anderen potentiell nephrotoxischen Pharmaka, z.B. Schleifendiuretika, untersuchen. Die Bestimmung der harnpflichtigen Substanzen Kreatinin und Harnstoff im Serum erweist sich in diesem Zusammenhang als nicht ausreichend, da diese erst nach einer gewissen Latenzzeit und bei nicht zu kompensierender Einschränkung der Nierenfunktion ansteigen. Es ist daher erforderlich, empfindlichere Parameter heranzuziehen. Vorangegangene Studien der Arbeitsgruppe MONDORF zeigten, daß leichte, noch reversible Schäden der proximalen Nierentubuli zu einer verstärkten Elimination von sogenannten Leitenzymen der Tubuluszellen im Urin führen. Am empfindlichsten reagierte das Enzym Alanin-Aminopeptidase (AAP), es wurden auch erhöhte Ausscheidungsraten der alkalischen Phosphatase und der Gamma-Glutamyl-Transferase nachgewiesen.
Im Bereich der proximalen Tubuli sind die transmembranalen Flußraten besonders hoch. Es ist daher zu erwarten, daß sich gerade dort pharmakotoxische Effekte manifestieren. Diese Hypothese konnte in Tierversuchen bestätigt werden, denn man fand nach Applikation von Cephalosporinen bei Ratten im Bioptat herdförmige Nekrosen der proximalen Tubuluszellen (19,78).

UNIV. LEIPZIG

Die vorliegende Probandenstudie ist Bestandteil der Phase I der klinischen Prüfung des Cephalosporins Ceftizoxim. Ziel dieser Studie war es, mögliche Veränderungen der Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung im Urin nach Gabe dieses Antibiotikums zu erfassen. In der Klinik werden Cephalosporine häufig zusammen mit Diuretika angewandt, so daß auch die Kombination von Ceftizoxim mit dem Schleifendiuretikum Azosemid untersucht wurde.

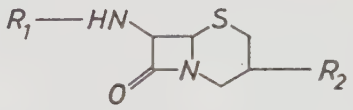
CHARAKTERISTIKA DER UNTERSUCHTEN PHARMAKA:

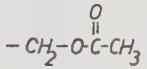
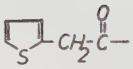
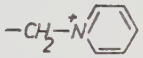
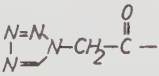
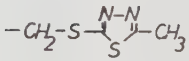
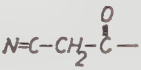
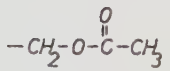
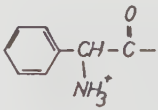
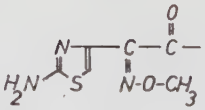
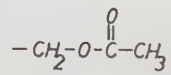
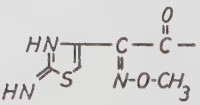
CEPHALOSPORINE:

Im Jahre 1945 isolierte GUISEPPE BROTZU aus dem Nährboden des Pilzes Cephalosporium acremonium eine antibiotisch wirksame Substanz, die jedoch wegen ihrer schwachen antibakteriellen Wirksamkeit keine therapeutische Bedeutung erlangen konnte. Zehn Jahre später zeigte ABRAHAM, daß diese Substanz ein Gemisch aus drei verschiedenen Antibiotika darstellte, und zwar dem Cephalosporin P, einem Steroid-Antibiotikum, dem Cephalosporin N, das sich von der 6-Amino-Penicillansäure ableitet, und dem Cephalosporin C. Das letztere fand besondere Beachtung, da es aufgrund seiner Resistenz gegen die Staphylokokken-Penicillinase das Wirkungsspektrum der bis dahin bekannten Penicilline erweiterte. 1971 gelang es MORIN et al. die chemische Grundsubstanz des Cephalosporin C, die 7-Amino-Cephalosporansäure (7-ACS), freizulegen.

Auf diesen Kenntnissen aufbauend konnten in der Folgezeit zahlreiche, zum Teil auch oral anwendbare Cephalosporine synthetisiert werden.
Die Cephalosporine gehören wie die Penicilline zu den β-Lactam-Antibiotika. Da jedoch an den Lactamring ein sechsgliedriger Heterozyklus angelagert ist, sind sie stabil gegenüber den Penicillinasen.
Durch Acylierung der Aminogruppe der 7-Amino-Cephalosporansäure mit verschiedenen Carbonsäuren und durch Variation des C_3-Restes wurden halbsynthetische Cephalosporine hergestellt, die sich hinsichtlich ihrer pharmakokinetischen und toxikologischen Eigenschaften unterscheiden.

C H E M I E D E R C E P H A L O S P O R I N E



7-Amino-Cephalosporansäure	H–	
Cephaloridin		
Cephazolin		
Cephacetril		
Cefaclor		–Cl
Cefotaxim		
Ceftizoxim		–H

Aufgrund der chemischen Verwandtschaft zu den Penicillinen besitzen die Cephalosporine auch den gleichen Wirkungsmechanismus. Sie hemmen die Biosynthese der Zellwand, indem sie durch irreversible Inaktivierung der Murein-Transpeptidase die Quervernetzung der Mureinmoleküle verhindern. Die entstehenden Bakterienzellen sind osmotisch labil, d.h. Cephalosporine wirken bactericid auf proliferierende Keime.

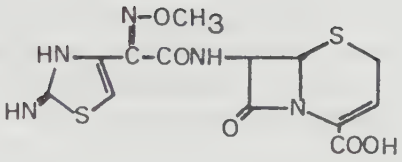
Ihr Wirkungsspektrum ist breit und mit dem des Ampicillins zu vergleichen. Die neueren Cephalosporine sind bei im Krankenhaus erworbenen, bedrohlichen Infektionen, zur perioperativen Kurzzeit-Prophylaxe und bei Patienten mit Penicillinallergie indiziert (42,83,84). Einige gramnegative Bakterien bilden β-Lactamasen, sogenannte Cephalosporinasen, und entwickeln so eine Resistenz. Teilweise konnten auch Kreuzresistenzen mit penicillinasefesten Penicillinen wie Oxacillin und Methicillin nachgewiesen werden.

Man appliziert die Cephalosporine meist parenteral. Sie sind gut wasserlöslich und werden daher größtenteils durch die Nieren ausgeschieden. Dies geschieht sowohl durch glomeruläre Filtration als auch durch einen aktiven Transportmechanismus für organische Säuren in den proximalen Tubuli. Im Harn werden höhere Antibiotikakonzentrationen als im Serum erreicht. Nur ein geringer Anteil (0,5 - 5 %) wird in der Leber metabolisiert und biliär sezerniert.

Bisher sind folgende Nebenwirkungen nach der Applikation von Cephalosporinen beschrieben worden: Allergien, Unverträglichkeitsreaktionen des Magen-Darm-Traktes mit Diarrhöen, allergische Leukocyto-

penien sowie reversible Anstiege der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase im Serum.
Als wichtigste Nebenwirkung ist der nephrotoxische Effekt einiger Cephalosporinderivate zu nennen. Zahlreiche Autoren (14,15,26,47,66,85) haben nach der Gabe hoher Dosen Cephaloridin oder Cephalotin von akuten Tubulusnekrosen und daraus resultierender reversibler Niereninsuffizienz berichtet. Diese Nebenwirkungen traten besonders bei vorgeschädigten Nieren oder bei einer Kombinationstherapie mit anderen potentiell nephrotoxischen Pharmaka, z.B. Aminoglykosiden und Schleifendiuretika, auf.

CEFTIZOXIM:



Ceftizoxim

Sodium (6R,7R)-7- (Z)-2-(2-imino-4-thiazolin -4-yl)-2-methoxyiminoacetamido -8-oxo-5-thia -1-azobicyclo 4.2.0 octo-2-ene-2-carboxylate

Summenformel: $C_{13}H_{12}N_5O_5S_2Na$
Molekulargewicht: 405,38

Im Gegensatz zu den anderen Cephalosporinen hat Ceftizoxim keinen Substituenten an C_3.
Es liegt als weiß-gelblicher kristalliner Puder vor und ist sowohl in Wasser als auch in 0,9 %iger Kochsalzlösung gut löslich. Auch in gelöstem Zustand kann das Antibiotikum längere Zeit ohne Aktivitätsverlust aufbewahrt werden.

Ceftizoxim ist besonders gegen gramnegative Keime wirksam und wird angewandt bei Infektionen mit Haemophilus influenzae, indolpositivem Proteus, Serratia, Enterobacter, Citrobacter und Anaerobiern, die gegenüber konventionellen Cephalosporinen unempfindlich sind. Man konnte eine erhöhte Stabilität gegenüber den von gramnegativen Bakterien synthetisierten β-Lactamasen nachweisen.

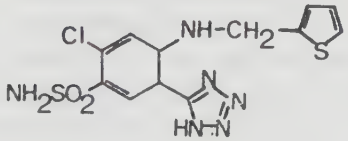
Nach parenteraler Applikation wird Ceftizoxim nicht im Körper metabolisiert, sondern bereits in den ersten acht Stunden post infusionem zu 7o - 9o % im Urin ausgeschieden. Die Halbwertszeit beträgt etwa 1,4 Stunden.
Beim Menschen sind Dosen bis zu 6 g/Tag angewandt worden (92). In einer klinischen Studie an 1127 Patienten (92) traten im Zusammenhang mit der Gabe von Ceftizoxim folgende Nebenwirkungen auf:

Hauterscheinungen	0,9 %
Fieber	1,0 %
Diarrhoe	0,4 %
Nausea	0,1 %

Für einen nephrotoxischen Effekt fand man auch in Tierversuchen keinen Anhalt. Bei Dosen bis zu 1ooo mg/kg/Tag veränderten sich bei Kaninchen und Hunden die Konzentrationen der harnpflichtigen Substanzen im Serum nicht im Sinne einer Funktionseinschränkung der Nieren (92).

AZOSEMID:

Das Schleifendiuretikum Azosemid gehört zu der Klasse der halogen-substituierten Benzolsulfonamide. Es ist chemisch verwandt mit Furosemid.



Azosemid

5-(4-chloro-5-sulphamyl-2-thenyl-aminophenyl)-tetrazole

Molekulargewicht: 37o,5

Das Saluretikum kann sowohl oral als auch parenteral angewandt werden. Es handelt sich um ein schnell wirksames Diuretikum, dessen maximaler Effekt in den ersten drei Stunden nach Applikation einsetzt. Innerhalb eines Tages wird die Substanz und ihre Metabolite vollständig durch die Nieren ausgeschieden. Dabei ergänzen sich glomeruläre Filtration und tubuläre Sekretion.

Der Wirkungsmechanismus gleicht dem des Furosemid, jedoch zeigt sich bei Azosemid ein ungefähr fünffacher saluretischer Effekt, wenn es parenteral zugeführt wird. Die Wirkung von Furosemid klingt schneller ab als diejenige von Azosemid. Schleifendiuretika hemmen die Rückresorption der Chlorid-Ionen im aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife. Zum Ladungsausgleich verbleiben auch Natrium- und Kalium-Ionen vermehrt im Harn. Dem osmotischen Gradienten folgend ist die Rückresorption von Wasser erschwert, d.h. das Harnvolumen erfährt einen plasmaisotonen Zuwachs. Die Schleifendiuretika erlangten ihre klinische Bedeutung vor allem wegen ihres raschen Wirkungseintritts und ihrer guten Steuerbarkeit.

In einer klinischen Studie zur Prüfung von Azosemid an 103 Patienten (93) wurden Dosen bis zu 2oo mg/Tag gegeben, empfohlen werden 2o mg pro Applikation. Das Diuretikum zeigte dabei eine gute lokale und allgemeine Verträglichkeit, allerdings können bei hohen Dosen reversible ototoxische Nebenwirkungen auftreten. Diese Hörschäden fielen auch bei Gabe von Etacrynsäure und Furosemid auf und gehen mit morphologischen Veränderungen der Stria vascularis und einem Absinken des endocochleären Potentials einher. Es wird eine Hemmung der Natrium-Kalium-ATPase in der Stria vascularis und ein zusätzlicher Angriffspunkt an einer Chlorid-Ionen-Pumpe in den Haarzellen diskutiert.

P A T H O P H Y S I O L O G I E D E R A L A N I N - A M I N O P E P T I D A S E :

Im menschlichen Organismus kommen mehrere Isoenzyme der Alanin-Aminopeptidase (AAP) vor. Eines dieser Isoenzyme wurde in der Leber lokalisiert und stimmt offenbar mit der im Serum nachweisbaren AAP überein. MONDORF (1972) und SCHERBERICH (1974) beschrieben ein weiteres Isoenzym in einer durch Differentialzentrifugation gewonnenen Plasmamambranfraktion der Niere. Immunfluoreszenzuntersuchungen zeigten, daß die AAP ein Bestandteil der Bürstensaummembran der proximalen Tubuli ist. Das Enzym läßt sich im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase und zur Gamma-Glutamyl-Transferase von der Oberfläche der Zellen durch Papain leicht abdauen und ist offenbar der luminalen Grenzmembran der Mikrovilli aufgelagert.

Auch im Urin gesunder Personen erscheint eine Alanin-Aminopeptidase. Immunologisch ließ sich die Identität des Membranenzyms der Niere und der im Urin gefundenen AAP nachweisen (27). Mindestens 95 % des Harnenzyms liegen membrangebunden vor. Offenbar wird die AAP im Verlauf der physiologischen Zellmauserung proximaler Tubuluszellen ausgeschieden. Die Normalwerte im 24h-Urin werden für Männer und Frauen unterschiedlich angegeben (9,57), es besteht ein Zusammenhang mit dem Nierengewicht.
Da das Molekulargewicht des Glykoproteins Alanin-Aminopeptidase zwischen 156 ooo und 23o ooo (69,79) angegeben wurd, kann das Enzym nicht glomerulär filtriert werden. Die Serumenzymfraktion kann daher nur bei einer Glomerulumläsion in das Ultrafiltrat übertreten.

Die Häufigkeitsverteilung der Alanin-Aminopeptidase im 24h-Urin weist nur geringe Standardabweichungen auf, so daß Veränderungen unter pathologischen Bedingungen sehr gut erfaßt werden können. Die Sammelperioden sollten jedoch 24 Stunden betragen, da die Enzymausscheidung einer circardianen Rhythmik mit einem Minimum in den Nachtstunden unterliegt.

Untersuchungen zahlreicher Autoren ergaben, daß der Anstieg der AAP-Aktivität im Harn eine unspezifische Anwort auf eine renale oder extrarenal induzierte entzündliche bzw. toxische Tubulusschädigung darstellt (2,7,8,19,25,27,34,53,66,71,79). Der Enzymanstieg korreliert mit der Intensität der Läsion, falls eine glomeruläre Schädigung ausgeschlossen werden kann, und hängt ab vom Enzymmuster der geschädigten Abschnitte.
Die höchsten AAP-Spiegel im Urin werden bei akuten Tubulusnekrosen nach Applikation nephrotoxischer Substanzen beschrieben (12,56,59,73,75). Hohe transmembranale Flußraten lassen erwarten, daß sich toxische Nebenwirkungen besonders am proximalen Tubulus manifestieren. BERGMANN und SCHELER zeigten, daß die gegenüber Hypoxie besonders empfindlichen Tubuluszellen auf Störungen ihres Energiestoffwechsels mit der Abstoßung von Bürstensaummembranteilen reagieren. Da die Alanin-Aminopeptidase an der Membranoberfläche lokalisiert ist und nur schwache Bindungen zur Zellmembran aufweist, wird dieses Enzym an ehesten im Urin erscheinen.
Eine erhöhte Enzymurie kann jedoch nur aus Nephren resultieren, die zwar geschädigt sind, aber noch an der Urinausscheidung teilnehmen. Bei schwerer Nierenläsion mit teilweise ruhiggestellten Nephren sinkt daher die AAP-Ausscheidung.

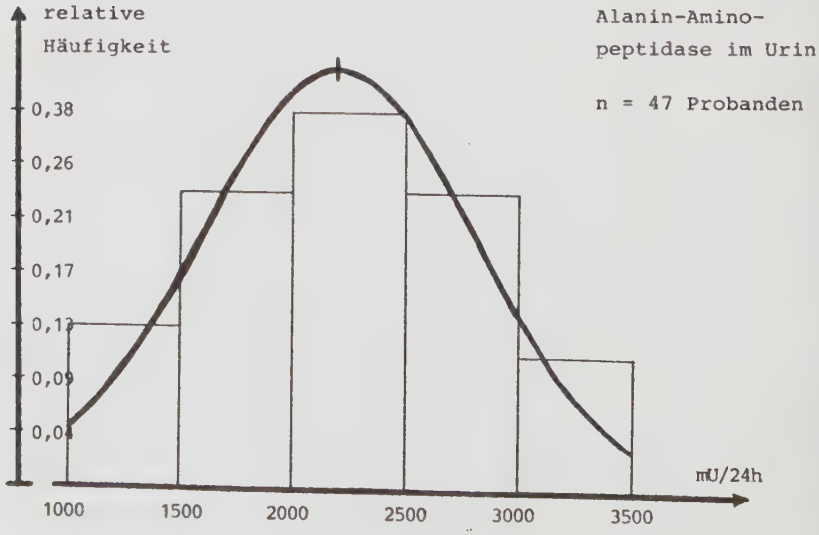
Zustände vermehrter Diurese sind dagegen mit einem Anstieg der Enzymsekretion verbunden, offenbar verursacht durch die erhöhte Funktion aller Nephren und durch den gesteigerten Durchfluß durch die Tubuli. Man spricht von einem Auswasch-Effekt. (8,31, 32,85)

Die Veränderung der Alanin-Aminopeptidase-Konzentration im Urin kann als sehr empfindlicher Parameter zur Untersuchung der Nephrotoxizität von Pharmaka herangezogen werden. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß leichte, noch reversible Schädigungen der proximalen Tubuli erfaßt werden, bevor eine Nierenfunktionseinschränkung diagnostizierbar wird.

Normwerte der Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung im 24h-Urin nach MONDORF et al. (1980) :

	Männer	Frauen
N	88	36
$\bar{x}$ (mU/24h)	2302	1490
s	± 931	± 530
VK (%)	40	36

Häufigkeitsverteilung der AAP-Aktivitäten im 24h-Urin (89) :



V E R S U C H S P E R S O N E N :

Die Untersuchungen wurden an freiwilligen männlichen Probanden im Alter zwischen 2o und 25 Jahren (Median: 22,5 Jahre) durchgeführt. Die Versuchspersonen waren normalgewichtig und hatten nach den Richtlinien der WHO normale Blutdruckwerte. Eine Vielfachanalyse und ein kleines Blutbild (Zentrallabor der Zentren Innere Medizin und Chirurgie der Universität Frankfurt a.M.) vor Applikation der Medikamente gaben keinen Anhalt für eine zum Versuchstermin ablaufende Erkrankung.

Teilnahmekriterien:

In der Anamnese keines Probanden war eine Nierenerkrankung bekannt. Eine dennoch bestehende Funktionseinschränkung der Nieren wurde durch Bestimmung der Konzentrationen von Kreatinin und Harnstoff im Serum sowie der endogenen Kreatinin-Clearance ausgeschlossen, wobei die folgenden Bedingungen erfüllt wurden :

Kreatinin im Serum	< 1,2	mg/dl
Harnstoff im Serum	< 52	mg/dl
endogene Kreatinin-Clearance	> 75	ml/min

Entsprechend ihren Angaben haben die Probanden seit mindestens zehn Tagen vor Versuchsbeginn und bis zum Ende der Studie keine Medikamente außer den Prüfsubstanzen eingenommen. Die tägliche Trinkmenge war auf 1 - 2 Liter Flüssigkeit festgesetzt, alkoholische Getränke waren wegen ihrer diuresesteigernden Wirkung untersagt.

Vor Versuchsbeginn wurden die Probanden über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Prüfung entsprechend § 4o, Absatz 1, Nr.2 des Arzneimittelgesetzes informiert und ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Untersuchung eingeholt.

Probandencharakteristika:

	Alter	Größe cm	Gewicht kg	RR mmHg	Harnst. mg/dl	Kreat. mg/dl	Kreat.-Cl. ml/min
P_1	24	172	63	125/7o	45	1,1	131
P_2	22	176	68	130/8o	43	1,1	132
P_3	23	170	56	120/80	35	o,9	125
P_4	25	184	74	125/85	31	1,1	1o4
P_5	2o	182	78	140/90	21	1,0	168
P_6	22	168	65	12o/6o	17	1,o	1o3
N_1	23	169	68	14o/85	35	1,0	14o
N_2	23	17o	7o	13o/8o	3o	1,2	121

V E R S U C H S A B L A U F :

Es wurden zwei Versuchsreihen von je 8 Tagen Dauer durchgeführt, wobei zunächst das Antibiotikum Ceftizoxim alleine und dann in Kombination mit dem Schleifendiuretikum Azosemid verabreicht wurde.

Die Probanden sammelten an allen Versuchstagen und zusätzlich an zwei vorangegangenen Tagen, an denen Leerwerte bestimmt wurden, jeweils den exakten 24h-Urin in Polyäthylenflaschen, die mit Natriumacid (NaN_3, Fa. Merck, Art.Nr, 6688), einem Konservierungsstoff zur Hemmung des Bakterienwachstums, versetzt worden waren.

Die Medikamente wurden an folgenden Tagen gegeben:

Versuch I:	Tag I,1	2 x 3 g	Ceftizoxim
	Tag I,2	2 x 3 g	Ceftizoxim
Versuch II:	Tag II,1	2o mg	Azosemid
	Tag II,2	2 x 3 g	Ceftizoxim
		2o mg	Azosemid
	Tag II,3	2 x 3 g	Ceftizoxim
		2o mg	Azosemid

3 g Ceftizoxim wurden gelöst in 25o ml physiologischer Kochsalzlösung als Kurzinfusion jeweils morgens um 7^{OO} Uhr und abends um 19^{OO} Uhr gegeben. Azosemid wurde morgens nach der Kurzinfusion gespritzt.

An den Tagen I,1; II,1 und II,2 sammelten die Probanden tagsüber zur Erstellung eines Tagesprofils der Enzymurie 2h- bzw. 4h-Urinportionen. Um auch an diesen Tagen die 24h-Ausscheidung der AAP zu bestimmen, wurden jeweils aliquote Anteile der Portionen gemischt.

Protokoll des Versuchs:

-2	-1	I,1	I,2	I,3	I,4	I,5	I,6	I,7
24h-U	24h-U	24h-U Port.	24h-U	24h-U	24h-U	24h-U	24h-U	24h-U
	VA BB Kreat.	VA BB Kreat.			VA BB Kreat.			VA BB Kreat.
		2x3g C	2x3g C					

II,1	II,2	II,3	II,4	II,5	II,6	II,7
24h-U Port.	24h-U Port.	24h-U	24h-U	24h-U	24h-U	24h-U
VA BB Kreat.	VA BB Kreat.					VA BB Kreat.
	2x3g C	2x3g C				
2omg A	2omg A	2omg A				

Legende:

VA	Vielfachanalyse
BB	Blutbild
Kreat.	Kreatinin im Harn
2x3g C	verabreichte Menge des Ceftizoxim
2omg A	verabreichte Menge des Azosemid

A N A L Y S E M E T H O D E N :

An den Tagen -1; I,1; I,4; I,7; II,1; II,2 und II,7 wurde Blut bzw. Urin zur Vielfachanalyse und kleinem Blutbild (Zentrallabor der Zentren Innere Medizin und Chirurgie der Universität Frankfurt a.M.) sowie zur Bestimmung des Kreatinins im Harn (Nephrologisches Labor) entnommen.

Verarbeitung der 24h-Urine :

Die Urine wurden nach Möglichkeit schon während der Sammelperioden kühl gelagert. Das Bakterienwachstum wurde durch eine Messerspitze Natriumacid (Fa. Merck Art.Nr. 6688) unterdrückt. Am Ende der Sammelperioden wurde der Urin gemischt, das Volumen bestimmt und mit N-Multistix (Fa. ames) nach pathologischen Urinbestandteilen gefahndet: Proteine (5-20 mg/dl), Glucose (>100 mg/dl), Ketonkörper, Bilirubin, Urobilinogen und Blut (ab 5-15 Erys/µl).

20 ml der gefilterten Urins (Selecta Faltenfilter, Art. 304205) wurden für die biochemische Bestimmung der AAP kühl gelagert (+4°C). Diese Messung wurde spätestens 12 Stunden nach Ende der Sammelperioden vorgenommen.

Der Urin von zwei Probanden wurde in Konzentratoren (Minicon - B der Fa. Amicon) um den Konzentrierungsfaktor 25 eingeengt.

$$\text{Konzentrierungsfaktor} = \frac{\text{eingesetztes Volumen}}{\text{entnommenes Volumen}}$$

Diese Konzentrate wurden zur Durchführung einer Überwanderungselektrophorese benötigt.

Biochemische Bestimmung der Alanin-Aminopeptidase:

Die AAP wurde im gefilterten Nativharn nach der kinetischen Methode am Eppendorf-Photometer mit temperiertem Küvettenhalter (Fa. Netheler und Hinz GMBH Hamburg, Nr. 11oo M) bei 25°C bestimmt.

Substrat: L-Alanin-4-nitroanilid-hydrochlorid
$1{,}66 \times 1o^{-2}$molar (Merck, 1o14)
Molekulargewicht: 245,67
Summenformel: $C_9H_{12}Cl\ N_3O_3$

Puffer: 0,1m Na_2HPO_4 + 0,1m KH_2PO_4
eingestellt auf pH 7,6

Testansatz: 0,2 ml Substrat
1,4 ml Phosphatpuffer
0,4 ml Urinprobe

Das Substrat L-Alanin-4-nitroanilid wird von der AAP zu Nitroanilin und L-Alanin hydrolisiert. Das freiwerdende Nitroanilin kann direkt durch Messung der Extinktionszunahme bei 4o5 nm bestimmt werden. Man mißt die Zeit für eine Extinktionszunahme ΔE = 0,1oo.

Die Enzymaktivität kann nach der folgenden Formel bestimmt werden:

$$\text{Aktivität (mU/ml)} = \frac{\Delta E \times V \times 6o\ \text{sec} \times 1o^3}{t \times \varepsilon \times d \times v}$$

ΔE = 0,1oo Extinktionszunahme
V = 2 ml, Volumen des Testansatzes
t = Zeit für die vorgegebene Extinktionszunahme
ε = 962o cm^2/mol, spez. mol. Extinktionskoeffizient
d = 1 cm, Schichtdicke
v = 0,4 ml, eingesetztes Probevolumen

Immunologischer Nachweis der AAP in einer Überwanderungselektrophorese :

Prinzip:

In dem elektrischen Feld des Niedervolt-Elektrophorese-Systems Rapidophor (Immuno Diagnostika GMBH, Mannheim) bewegen sich in einem Agarmedium spezifische AAP-Antikörper und konzentrierter Urin in entgegengesetzter Richtung, so daß beim Zusammentreffen von Antigen (AAP im Urin) und Antikörper eine Präzipitationslinie entsteht. Diese Präzipitation kann mit Hilfe einer Färbung der AAP dargestellt werden.

Durchführung:

Jeweils 1o µl des AAP-Antikörpers (α-PM der Ziege vom 27.2.78, Verdünnung 1 : 1o) werden in die vorgesehenen Löcher des Agarmediumträgers pipettiert. Auf der gegenüberliegenden Seite werden ebenfalls 1o µl der konzentrierten Urine eingebracht. Die Löcher Nr. 19 und 2o werden mit verschiedenen Verdünnungen eines Kontrollantigens (AAP Pfleiderer 1,5 %ig, Verdünnung 1 : 1o bzw. 1 : 2o) beschickt. Anschließend wird der Träger für 45 min in die Elektrophoresekammer eingebracht.

Färbung:

Es wurden folgende Lösungen verwandt:

a) 2o ml Phosphatpuffer pH 7,6 + 2 ml 0,02 M KCN in einem Wasserbad bei 37°C inkubiert

b) 24 mg DL-α-Alanin-β-naphthylamid x HCl gelöst in 2 ml Methanol

c) 30 mg Fast Blue B-Salt gelöst in 2 ml H_2O

Die Lösungen b und c werden gleichzeitig in die inkubierte Pufferlösung gegeben. Dieses Gemisch gießt man über den Agarmediumträger und inkubiert im Wasserbad für 30 min bei 37°C. Anschließend wird der Träger gewässert und bei Raumtemperatur getrocknet.

Die Alanin-Aminopeptidase kann durch diese spezifische Färbemethode als braunroter Niederschlag dargestellt werden.

E R G E B N I S S E :

Tab.1: Analyse der Leerwerte

$\bar{x}$ = Mittelwert
s = Standardabweichung

	Tag	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	$\bar{x}$	s
Urin-Vol.	-2	910	1470	620	1630	510	2180	1268	706
ml/24h	-1	530	1260	630	2260	830	2380		
AAP	-2	2463	3864	2447	1422	1273	2959	2343	813
mU/24h	-1	2262	3588	1779	2036	1577	2447		
AAP	-2	2,71	2,63	3,95	0,87	2,50	1,36	2,32	1,13
mU/ml	-1	4,27	2,85	2,82	0,90	1,90	1,03		
Kreatinin mg/dl	-1	390	166	258	---	54	62	186	141
Kreatinin mg/24h	-1	2067	2092	1625	---	448	1476	1542	668

Aus dem 24h-Sammelurin der Probanden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor Versuchsbeginn konnte folgender Mittelwert der AAP-Ausscheidung ermittelt werden:

2343 ± 813 mU/24h (n = 2 x 6)

Abb.1: Diurese und Enzymurie

Die AAP-Ausscheidung als Funktion des Urin-Volumens an den Tagen -2 und -1

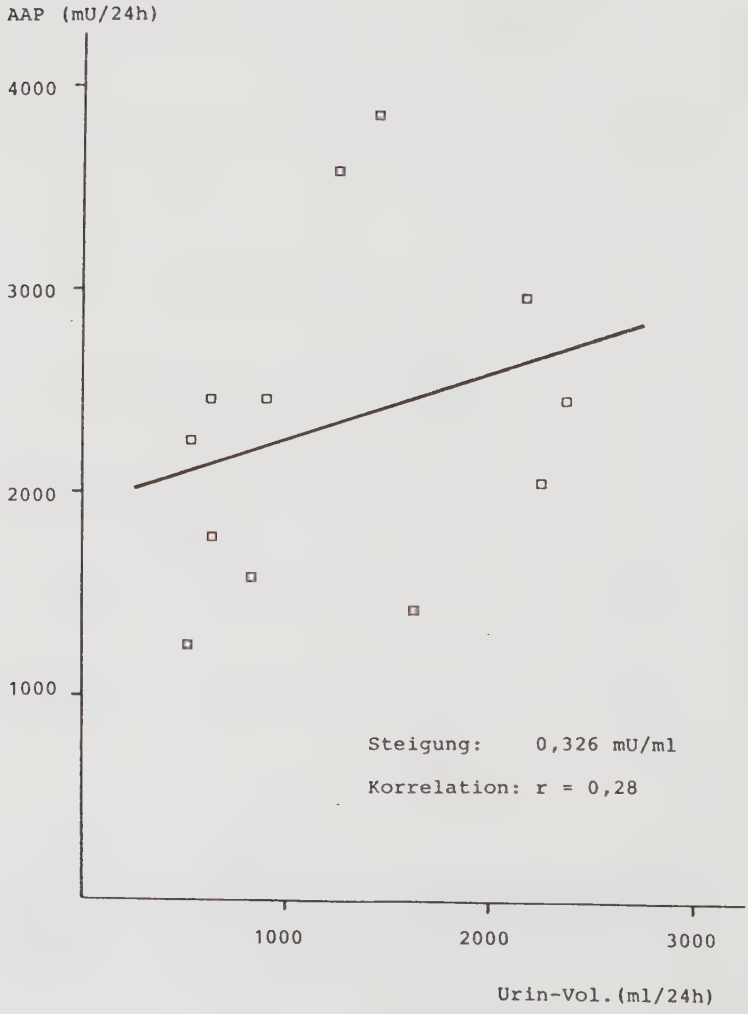


Abb.2: AAP-Ausscheidung als Funktion der Kreatinin-Ausscheidung an Tag -1

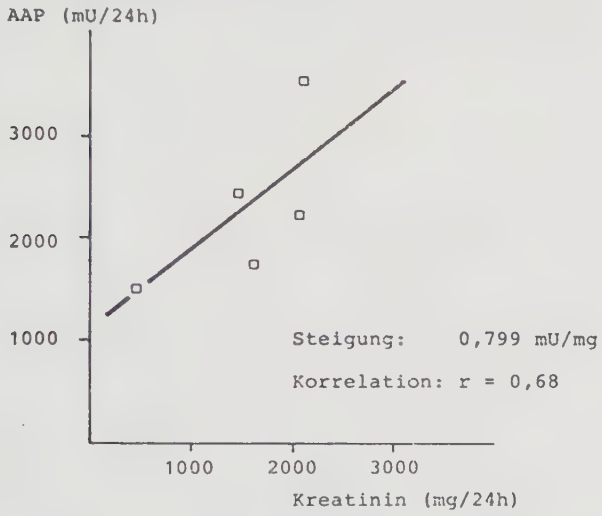
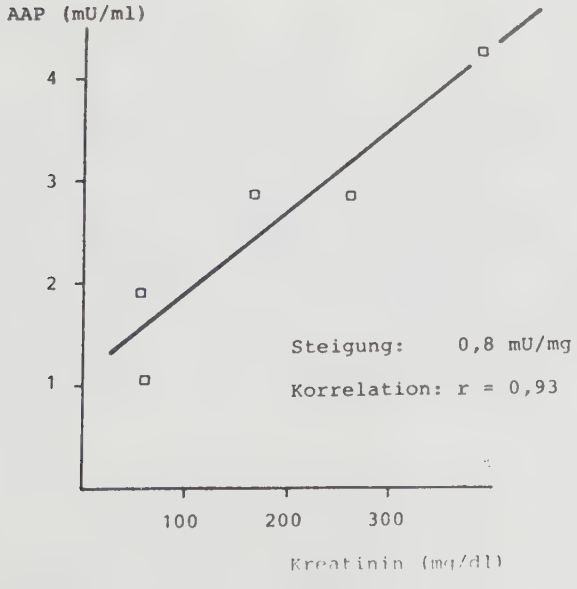


Abb.3: AAP-Konzentration im Urin als Funktion der Kreatinin-Konzentration an Tag -1



Tab.2: AAP-Ausscheidung im 24h-Sammelurin an den verschiedenen Versuchstagen

AAP (mU/24h)

Tag	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	$\bar{x}$	s
-2	2463	3864	2447	1422	1273	2958	2405	968
-1	2262	3588	1779	2036	1577	2447	2282	713
I,1	3071	1794	2045	2666	2702	3489	2628	629
I,2	849	1248	2293	2499	1430	1018	1556	683
I,3	1992	1949	2926	4147	2115	1593	2454	940
I,4	1812	2114	2006	3236	2676	2037	2314	538
I,5	1187	4459	2264	2087	2869	2365	2539	1090
I,6	1307	2217	2637	1859	1165	2775	1993	671
I,7	1661	6289	2052	2372	1030	1400	2467	1931
I,8	2885	4896	2885	---	---	---	3555	1161
II,1	3159	3097	3006	3591	2570	4405	3305	630
II,2	2546	2808	1619	1998	2650	3966	2598	805
II,3	2775	1791	1379	1998	2195	3374	2252	718
II,4	1294	637	999	1561	1308	2445	1374	613
II,5	---	---	---	1642	1899	1126	1556	394
II,6	887	1662	1789	1484	1347	928	1516	553
II,7	2011	1121	1068	1722	4193	2777	2315	1065

Tab.3: gesammelte Urinmengen an den Versuchstagen

Urin-Volumen (ml/24h)

Tag	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	$\bar{x}$	s
-2	910	1470	620	1630	510	2180	1220	650
-1	530	1260	630	2260	830	2380	1315	819
I,1	890	990	860	1590	1210	1630	1195	344
I,2	440	860	1460	1840	960	620	1030	527
I,3	540	990	930	2060	720	900	1023	742
I,4	480	1030	800	1940	1100	900	1042	491
I,5	360	1850	600	1080	860	1220	995	523
I,6	410	970	530	770	450	1540	778	429
I,7	570	1770	580	1410	650	1090	1012	500
I,8	580	1780	630	---	---	---	997	679
II,1	2412	2940	1990	2570	1920	3155	2498	496
II,2	2120	2611	1717	2370	2170	2660	2275	351
II,3	2230	2260	1760	1840	2150	2650	2148	321
II,4	740	530	560	1000	780	2540	1025	761
II,5	---	---	---	1040	850	420	770	318
II,6	540	1420	1020	940	1210	440	928	379
II,7	1020	1340	1390	1060	1780	1180	1462	662

Tab.4: AAP-Konzentration im 24h-Sammelurin im Verlauf der Versuchsreihen

AAP (mU/ml)

Tag	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	$\bar{x}$	s
-2	2,71	2,63	3,95	0,87	2,50	1,36	2,34	1,09
-1	4,27	2,85	2,82	0,90	1,90	1,03	2,30	1,29
I,1	3,45	1,81	2,39	1,68	2,23	2,14	2,28	0,63
I,2	1,93	1,45	1,57	1,36	1,49	1,64	1.57	0,18
I,3	3,69	1,97	3,15	2,01	2,94	1,77	2,59	0,78
I,4	3,77	2,05	2,51	1,67	2,43	2,26	2,45	0,71
I,5	3,30	2,41	3,77	1,93	2,34	1,94	2,62	0,75
I,6	3,19	2,29	4,98	2,41	2,59	1,80	2,88	1,12
I,7	2,91	3,55	3,54	1,68	1,59	1,28	2,43	1,03
I,8	4,97	2,75	4,58	---	---	---	4,10	1,18
II,1	1,31	1,05	1,51	1,39	1,34	1,40	1,33	0,15
II,2	1,20	1,08	0,94	0,84	1,22	1,49	1,13	0,23
II,3	1,24	0,79	0,78	1,09	1,02	1,27	1,03	0,21
II,4	1,75	1,20	1,78	1,56	1,68	0,96	1,49	0,33
II,5	---	---	---	1,58	2,23	2,68	2,16	0,55
II,6	1,64	1,18	1,75	1,58	1,94	2,11	1,70	0,32
II,7	1,97	0,84	1,49	1,62	1,51	2,35	1,63	0,51

Abb.4: Versuch I

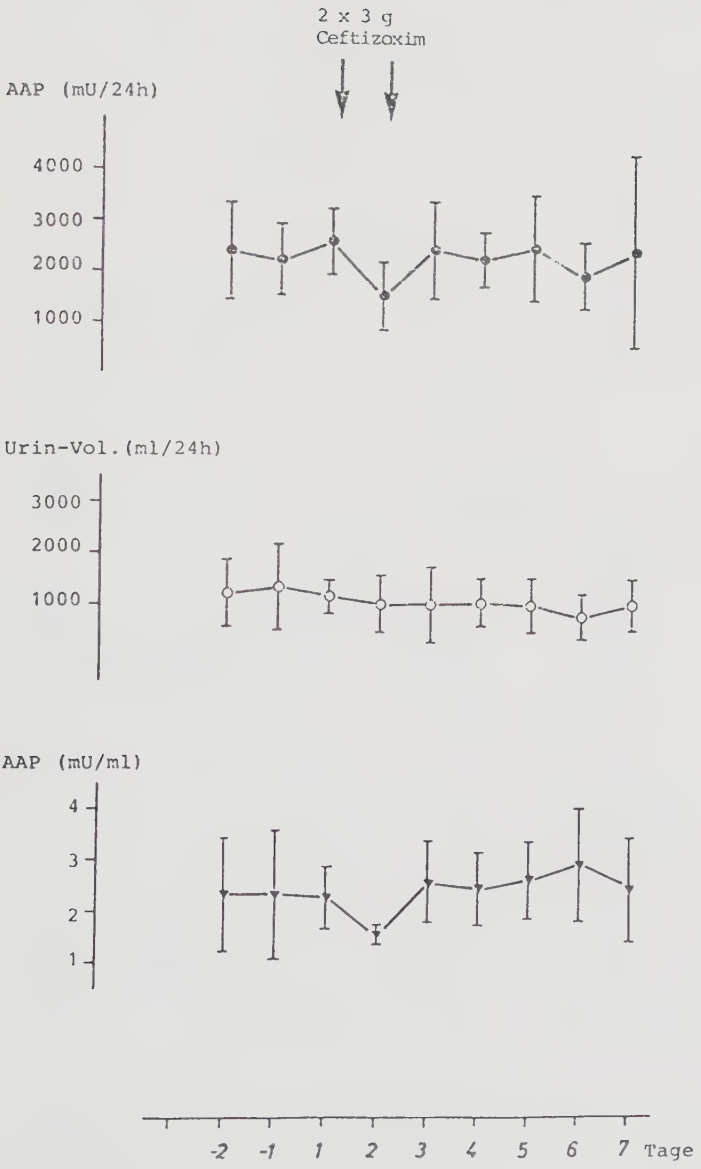
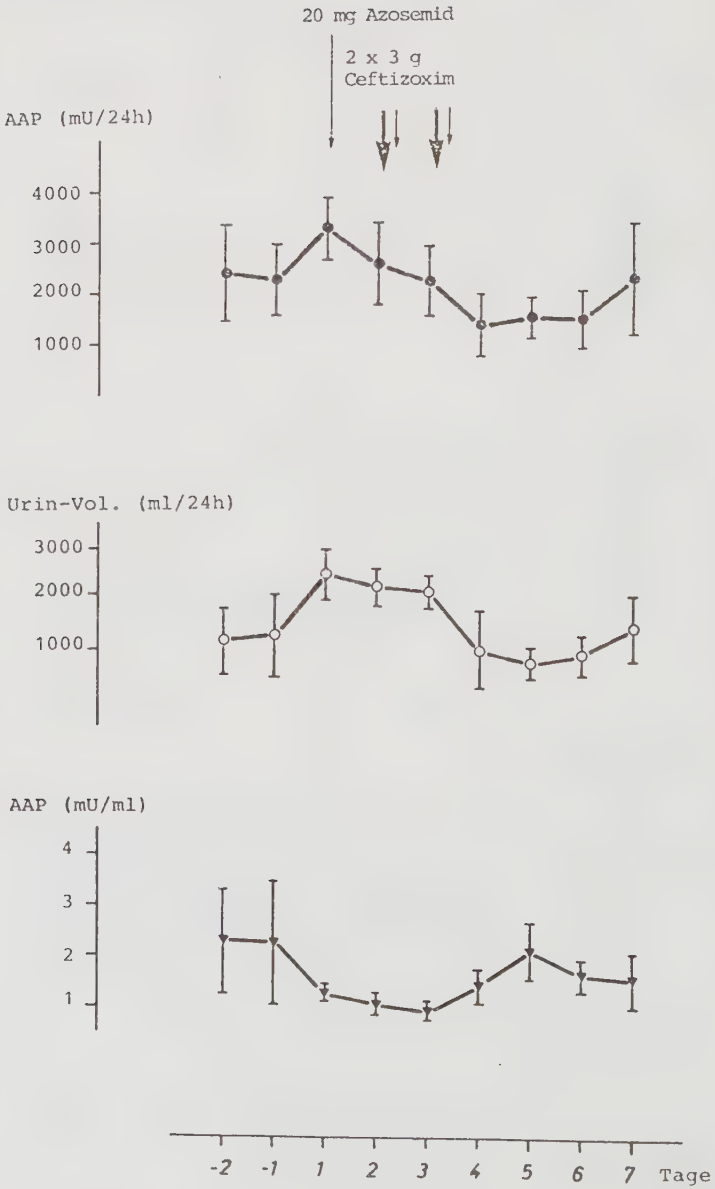


Abb.5: Versuch II



Tab.5: Veränderung der Nierenfunktionsparameter

Tag	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6
Harnstoff im Serum (mg/dl)						
-1	45	43	35	31	21	17
I,1	35	51	31	32	--	--
I,4	34	40	27	36	21	27
I,7	41	35	25	--	29	24
II,1	53	46	33	58	34	31
II,2	50	58	41	54	38	44
II,7	23	46	24	38	21	22
Kreatinin im Serum (mg/dl)						
-1	1,1	1,1	0,9	1,1	1,0	1,0
I,1	1,1	1,1	0,9	1,0	---	---
I,4	1,1	1,1	1,0	1,0	1,0	1,1
I,7	1,2	1,1	1,0	---	1,1	1,0
II,1	1,2	1,1	1,1	1,1	1,0	1,0
II,2	1,3	1,1	1,0	1,2	1,0	1,0
II,7	1,1	1,0	0,9	1,0	0,9	1,0

Tab.5: Fortsetzung

Tag	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6
Kreatinin im Urin (mg/dl)						
-1	390	166	258	---	54	62
I,1	534	176	154	116	---	---
I,4	336	190	186	72	240	140
I,7	292	98	232	---	260	---
II,1	74	72	52	64	84	58
II,2	60	72	82	70	102	60
II,7	110	180	90	136	56	172
Kratinin-Clearance (ml/min)						
-1	131	132	125	---	168	102
I,1	101	129	102	128	---	---
I,4	102	124	103	103	120	80
I,7	96	110	93	---	107	---
II,1	103	134	65	104	145	127
II,2	68	119	98	96	153	111
II,7	71	168	97	100	108	141

Tab.6: AAP-Ausscheidung (mU/24h) als Funktion der produzierten Urinmenge nach Gabe von 20 mg Azosemid (Versuchstag II,1)

	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6
AAP (mU/24h)	3159	3097	3006	3591	2570	4405
Urin-Vol. (ml/24h)	2412	2940	1990	2570	1920	3155

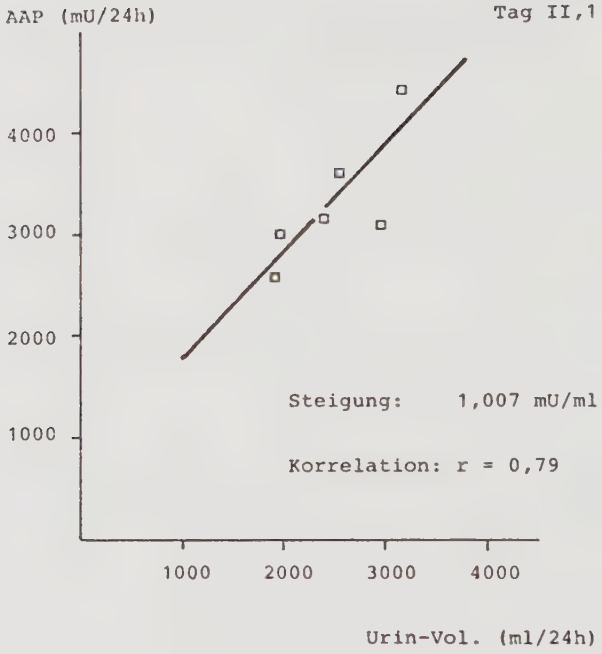


Abb.6: AAP-Ausscheidung als Funktion der produzierten Urinmenge nach Gabe von 20 mg Azosemid (Versuchstag II,1)

Tab.7: Maximalwerte (C_{max}) der AAP-Ausscheidung, des Urinvolumens sowie der AAP-Konzentration im 24h-Sammelurin zum Zeitpunkt T_{max}

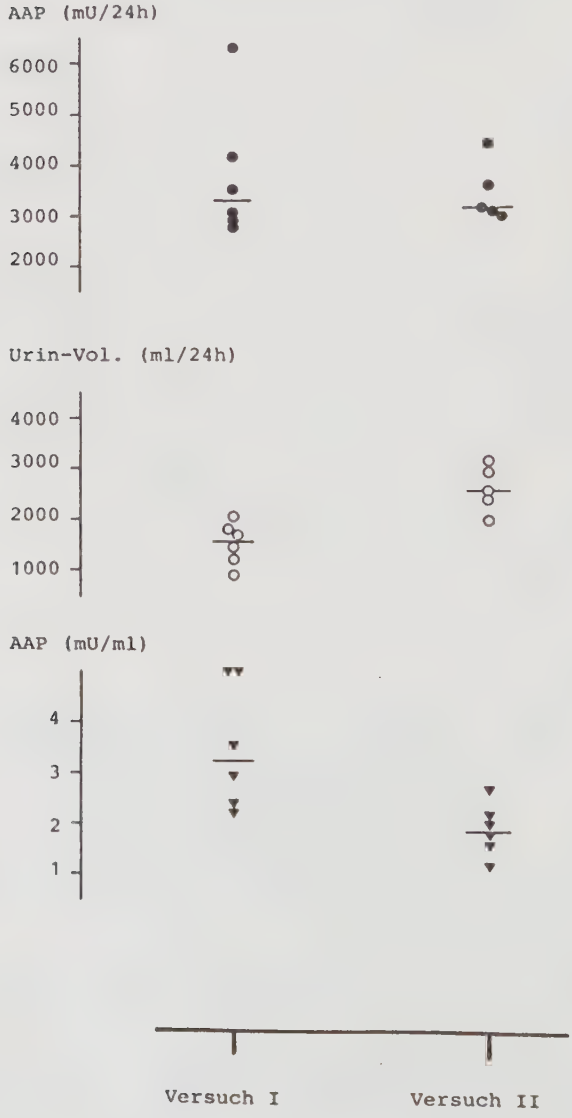
Versuch I:

		P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	Median
AAP	T_{max}	I,1	I,7	I,3	I,3	I,5	I,3	
(mU/24h)	C_{max}	3071	6289	2926	4147	2869	3489	3280
Urin-Vol.	T_{max}	I,1	I,8	I,2	I,3	I,1	I,1	
(ml/24h)	C_{max}	890	1780	1460	2060	1210	1630	1545
AAP	T_{max}	I,8	I,7	I,6	I,6	I,3	I,4	
(mU/ml)	C_{max}	4,97	3,55	4,98	2,41	2,94	2,26	3,25

Versuch II:

		P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	Median
AAP	T_{max}	II,1	II,1	II,1	II,1	II,7	II,1	
(mU/24h)	C_{max}	3159	3097	3006	3591	4193	4405	3159
Urin-Vol.	T_{max}	II,1	II,1	II,1	II,1	II,7	II,1	
(ml/24h)	C_{max}	2412	2940	1990	2570	2780	3155	2570
AAP	T_{max}	II,7	II,4	II,4	II,7	II,5	II,5	
(mU/ml)	C_{max}	1,97	1,20	1,78	1,62	2,23	2,68	1,88

Abb.7: Maximalwerte der AAP-Ausscheidung, des Urin-Volumens sowie der AAP-Konzentration im 24h-Sammelurin im Verlauf der beiden Versuchsreihen



Tab.8: Überwanderungselektrophorese

Antikörper: α-PM der Ziege vom 27.2.78, Verd. 1 : 10
Antigen: Harnkonzentrate (25fach konzentriert)
Laufzeit: 45 min
Färbung: AAP

Anordnung der aufgebrachten Harnkonzentrate:

1	P_6	Tag II,6	2,1 mU/ml
2	P_6	Tag II,7	2,4 mU/ml
3	P_6	Tag I,1	2,1 mU/ml
4	P_6	Tag I,2	1,6 mU/ml
5	P_6	Tag I,3	1,7 mU/ml
6	P_6	Tag I,4	2,3 mU/ml
7	P_6	Tag I,5	1,6 mU/ml
8	P_6	Tag I,6	1,8 mU/ml
9	P_6	Tag I,7	1,3 mU/ml
10	P_5	Tag II,6	1,9 mU/ml
11	P_5	Tag II,7	1,5 mU/ml
12	P_5	Tag I,1	2,2 mU/ml
13	P_5	Tag I,2	1,5 mU/ml
14	P_5	Tag I,3	2,9 mU/ml
15	P_5	Tag I,4	2,4 mU/ml
16	P_5	Tag I,5	2,3 mU/ml
17	P_5	Tag I,6	2,6 mU/ml
18	P_5	Tag I,7	1,6 mU/ml
19	AAP Pfleiderer 1,5 %ig, Verd.1:10		
20	AAP Pfleiderer 1,5 %ig, Verd.1:20		

Darstellung des Präzipitationsmusters:

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

Tab.9: Tagesprofil der AAP-Ausscheidung an drei Versuchstagen

AAP (mU/min)

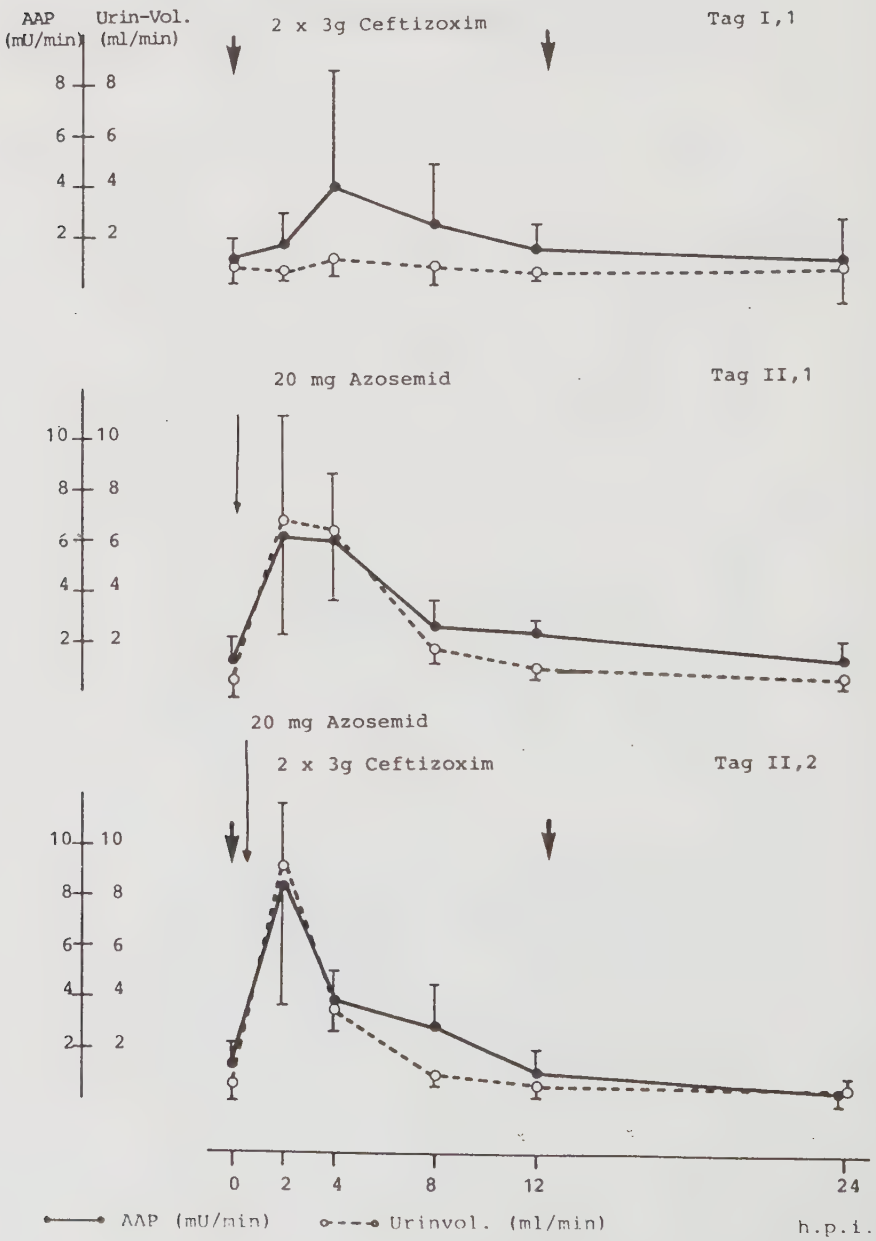
h.p.i.	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	$\bar{x}$	s
Tag I,1								
0 - 2	3,83	0,67	1,89	1,11	---	0,97	1,69	1,28
2 - 4	5,03	1,28	1,61	0,91	2,50	12,92	4,04	4,59
4 - 8	4,37	0,93	1,64	1,13	6,21	---	2,48	2,37
8 - 12	2,61	1,33	2,71	1,24	---	1,09	1,53	0,86
12 - 24	0,47	1,14	0,81	2,58	1,27	1,65	1,04	0,80
Tag II,1								
0 - 2	2,61	2,33	6,44	4,57	8,37	12,22	6,09	3,78
2 - 4	10,46	6,87	4,78	3,79	5,59	4,73	6,04	2,40
4 - 8	2,06	2,50	2,10	1,78	4,30	3,04	2,63	0,93
8 - 12	2,05	2,32	2,87	2,19	---	---	2,36	0,34
12 - 24	0,84	1,16	0,65	0,84	1,86	2,28	1,27	0,65
Tag II,2								
0 - 2	11,13	4,47	4,43	4,74	9,81	15,67	8,38	4,62
2 - 4	2,23	4,04	4,24	2,81	4,94	4,90	3,86	1,11
4 - 8	3,40	3,75	1,07	---	1,48	5,00	2,94	1,64
8 - 12	0,74	2,29	0,51	1,59	0,21	---	1,07	0,85
12 - 24	0,25	0,43	0,28	0,46	0,66	0,42	0,42	0,15

Tab.10: Tagesprofil des Harnminutenvolumens an drei Versuchstagen

Urin-Vol. (ml/min)

h.p.i.	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	$\bar{x}$	s
Tag I,1								
0 - 2	0,33	0,50	1,12	0,83	----	0,67	0,69	0,30
2 - 4	2,46	0,58	0,72	0,58	1,38	0,71	1,07	0,74
4 - 8	1,25	0,38	0,38	0,58	1,94	----	0,91	0,68
8 - 12	0,44	0,80	0,65	0,38	----	0,56	0,57	0,17
12 - 24	0,21	0,81	0,54	1,57	0,81	1,85	0,66	0,71
Tag II,1								
0 - 2	1,58	3,25	5,83	7,50	10,00	12,50	6,78	4,10
2 - 4	9,93	8,58	5,17	5,33	4,50	5,00	6,42	2,26
4 - 8	2,08	2,50	1,33	1,67	1,25	1,46	1,72	0,49
8 - 12	0,79	1,08	0,83	1,38	----	----	1.02	0,27
12 - 24	0,47	0,92	0,21	0,42	0,61	0,97	0,60	0,30
Tag II,2								
0 - 2	11,83	8,33	6,92	7,17	8,25	12,83	9,22	2,49
2 - 4	1,83	5,33	3,33	3,25	3,83	3,92	3,58	1,14
4 - 8	0,92	1,29	0,71	----	0,79	1,33	1,01	0,29
8 - 12	0,38	0,84	0,24	1,38	0,15	----	0,60	0,51
12 - 24	0,39	0,64	0,36	0,64	0,68	8,46	0,53	0,14

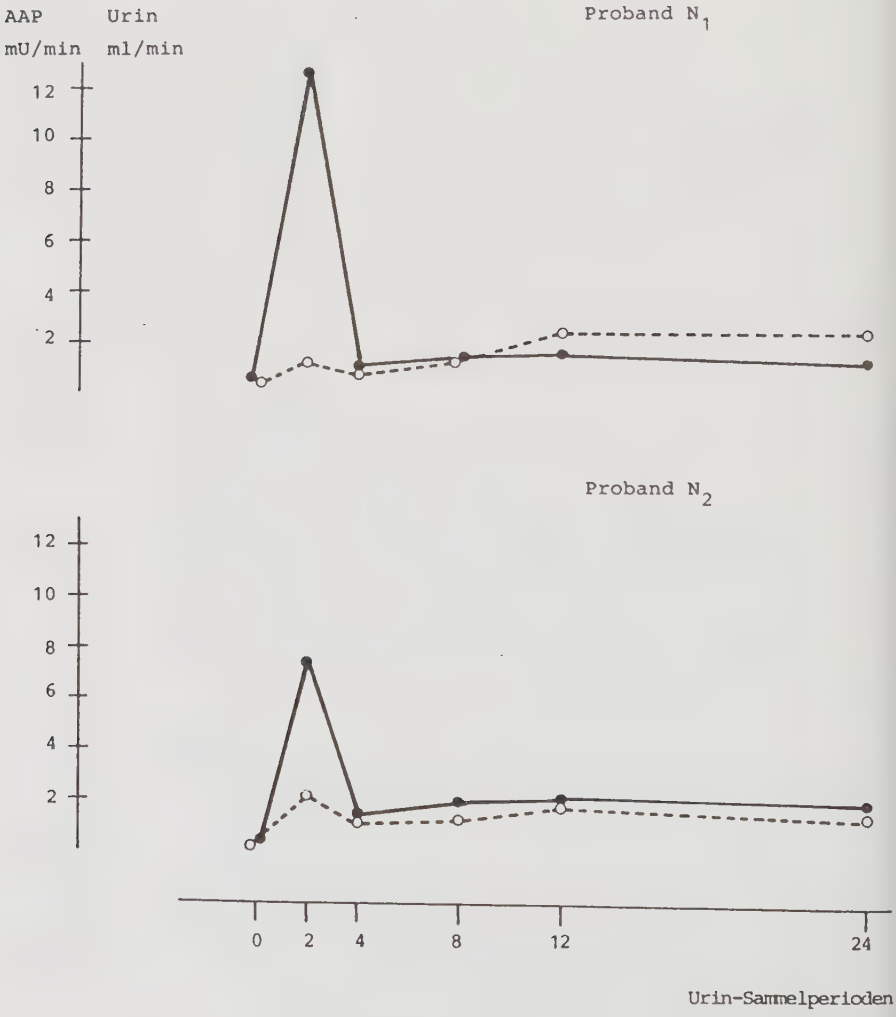
Abb.8: Tagesprofil der AAP-Ausscheidung und des Harnminutenvolumens an drei Versuchstagen



Tab.11: Tagesprofil der AAP-Ausscheidung und des Harnminutenvolumens zweier gesunder Personen

	Portion	Urin ml	Urin ml/min	AAP mU/ml	AAP mU/min
N_1	0 - 2	50	0,42	1,59	0,66
	2 - 4	145	1,21	10,46	12,64
	4 - 8	170	0,71	1,30	0,92
	8 - 12	300	1,25	1,15	1,44
	12 - 24	850	2,36	1,28	1,51
N_2	0 - 2	30	0,25	1,95	0,49
	2 - 4	260	2,17	3,41	7,40
	4 - 8	280	1,17	1,28	1,49
	8 - 12	320	1,33	1,42	1,89
	12 - 24	660	1,83	2,33	2,14

Abb.9: Tagesprofil der AAP-Ausscheidung und des Harnminutenvolumens zweier gesunder Personen



NORMWERTE:

des Klinisch-chemischen Zentrallabores
Klinikum der J.W.Goethe-Universität Frankfurt

Kreatinin im Serum:	0,65 - 1,39	mg/dl
Harnstoff im Serum:	19 - 52	mg/dl
endogene Kratinin-Clearance:	85 - 160	ml/min

D I S K U S S I O N :

DISKUSSION DER METHODEN:

Probandenauswahl:

An der vorliegenden Studie nahmen sechs männliche Versuchspersonen teil, die hinsichtlich Alter, Größe und Gewicht eine homogene Gruppe bildeten. Geschlechts- und altersspezifische Unterschiede der Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung, die von einigen Autoren beschrieben worden waren (9,69), konnten daher bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse vernachlässigt werden. Tabelle 1 zeigt, daß die mittlere AAP-Ausscheidung im 24h-Sammelurin der sechs Versuchspersonen (2343 $\pm$ 813 mU/24h) mit den von der Arbeitsgruppe MONDORF an einem größeren Probandenkollektiv ermittelten Normwerten (2302 $\pm$ 931 mU/24h) vergleichbar ist. Die Abweichung beträgt 1,75 %.

Versuchsablauf:

Zur reibungsloseren Durchführung des Versuches wurden zwei Untergruppen von jeweils drei Probanden gebildet, die nacheinander beide Versuchsreihen absolvierten. Ceftizoxim wurde als Kurzinfusion jeweils um $7^{\underline{00}}$ Uhr und um $19^{\underline{00}}$ Uhr in die Cubitalvene appliziert. Die Infusionsdauer betrug im Mittel 20 Minuten (Schwankungsbreite: 15 - 24 min). Azosemid wurde unmittelbar nach Ende der Infusion injiziert.
Die tägliche Trinkmenge war auf 1-2 Liter nichtalkoholischer Getränke festgelegt worden. Wegen der stark schwankenden Außentemperaturen an den einzelnen Versuchstagen kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß die Probanden unterschiedlich große Flüssigkeitsmengen konsumiert haben. Dies ist bei der Beurteilung der Ergebnisse zu berücksichtigen, da sowohl das Urin-

volumen als auch die Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung im Urin vom Diuresezustand beeinflußt werden (8,10,31,32,56).

Analysemethoden:

a) Verarbeitung der Sammelurine:

Die während der Sammelperioden möglichst kühl aufbewahrten Urinportionen wurden sofort nach Ende der Sammelperiode filtriert und gekühlt bis zur photometrischen Messung, die spätestens 12 Stunden später erfolgte, gelagert. Ein Aktivitätsverlust der Alanin-Aminopeptidase ist in diesem Zeitraum nicht zu erwarten (54). Eine täglich vermessene Kontrollprobe zeigte erst am sechsten Tag einen deutlichen Abfall der Enzymaktivität.
Alle Urinproben wurden mit Multistix auf pathologische Urinbestandteile untersucht, in keinem Fall wurden die angegebenen Normbereiche überschritten. Zwei der sechs Versuchspersonen zeigten am Versuchstag II,1 eine einfach positive Proteinurie. Dies ist sicherlich nicht als pathologischer Befund zu bewerten sondern möglicherweise durch eine in der Literatur beschriebene Permeabilitätssteigerung der Glomerulummembran nach Gabe von Schleifendiuretika zu erklären (65).

b) Biochemische Bestimmungen:

Urin gilt als ungünstiges Medium für Enzymbestimmungen, da physiologische pH-Schwankungen durch Veränderung der molekularen Konfiguration zur Beeinträchtigung der enzymatischen Aktivität führen können. Inhibitoren, die für verschiedene Enzyme im Urin gefunden wurden, spielen bei der Bestimmung der

Alanin-Aminopeptidase offensichtlich keine Rolle, da verglichen mit Nativharn in dialysierten Urinproben keine höheren AAP-Konzentrationen gemessen wurden (52).
Zur Vermeidung von Fehlbestimmungen wurde jede Urinprobe mindestens zweimal analysiert. In den Tabellen erschienen die daraus errechneten Mittelwerte. Bei größeren Abweichungen wurden mehrere Kontrollwerte bestimmt und Extremwerte eliminiert.
Gemessen wurden die Alanin-Aminopeptidase-Aktivitäten pro Milliliter Nativharn. Aufgrund der intra- und interindividuell stark schwankenden Urinvolumina erschien die Umrechnung auf das 24h-Gesamturinvolumen sinnvoll (mU/24h). Die inkonstante Zusammensetzung des Urins und die damit verbundene Schwierigkeit, normale von pathologischen Werten zu trennen, begründet die Suche nach anderen Bezugssystemen. Einige Autoren (27,70,86) schlagen im Urin ausgeschiedenes Kreatinin bzw. die Kreatinin-Clearance vor.
Ceftizoxim wird größtenteils unverändert über die Nieren ausgeschieden, es war daher zu prüfen, welchen Einfluß das Antibiotikum in vitro auf die AAP-Urinkonzentration hatte. Ein Testansatz mit 0,5 g Ceftizoxim in 100ml Nativurin zeigte 5 und 30 min nach Zugabe des Antibiotikums keine Veränderung der AAP-Konzentration verglichen mit zwei Vorwerten, d.h. Ceftizoxim stört die Bestimmung der Alanin-Aminopeptidase im Urin nicht.
Eine bakterielle Kontamination der Sammelurine kann trotz Zugabe von Natriumazid und gekühlter Lagerung nicht ausgeschlossen werden, erhöhte AAP-Konzentrationen in einzelnen Urinportionen können damit jedoch nicht begründet werden. Das gleiche gilt für eventuell im Urin vorhandene Blutzellen, deren AAP-Gehalt so gering ist, daß sie die Messungen nicht beeinflussen würden (71).

c) Überwanderungselektrophorese:

Es wurde versucht, in 25-fachen Harnkonzentraten das Glykoprotein Alanin-Aminopeptidase mittels eines Bürstensaum-Antiserums immunologisch nachzuweisen. Dieses spezifische Nachweisverfahren nutzt aus, daß etwa 95 % der gesamten AAP im Urin membrangebunden vorliegen (72). Es zeigte sich außer beim Kontollserum nur bei einer Urinprobe (Nr. 14; P_5; Tag I,3) eine Präzipitation. Dieses Ergebnis war insofern zu erwarten, als MONDORF (54) die Nachweisgrenze dieser Methode mit 5 mU/ml angegeben hat. Die Überwanderungselektrophorese bestätigte somit die zuvor enzymatisch ermittelten Werte, die alle unter der Nachweisgrenze lagen.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE:

Analyse der Leerwerte:

Die beträchtlichen Unterschiede der ausgeschiedenen Urinvolumina an den beiden Versuchstagen ohne Medikation (Minimum: 510 ml/24h; Maximum: 2380 ml/24h; Median: 1085 ml/24h) lassen sich, vorausgesetzt der Urin wurde vollständig gesammelt, bei nierengesunden Versuchspersonen nur durch unterschiedlich große Flüssigkeitsaufnahme während der Sammelperioden erklären. Abbildung 1 zeigt einen Anstieg der Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung pro Sammelperiode (mU/24h) bei großen Urinvolumina. Die Korrelation zwischen beiden Größen betrug r = 0,28.

Die mittlere AAP-Ausscheidung im Urin der sechs Versuchspersonen vor Medikation (2343 mU/24h $\pm$ 813) läßt sich, wie bereits erwähnt, mit den an größeren Probandenkollektiven gewonnene Werten hinsichtlich Mittelwert und Streuung vergleichen. Diese Basissekretion des Harnenzyms bei gesunden Versuchspersonen resultiert aus einer physiologischen Zellmauserung der Tubuluszellen. Eine glomeruläre Filtration der Serumenzymfraktion kann bei Gesunden aufgrund des hohen Molekulargewichtes der AAP ausgeschlossen werden.

In der Literatur werden zur Beurteilung der AAP-Ausscheidung im Urin verschiedene Bezugsgrößen vorgeschlagen (9,11,27,86), da die Alanin-Aminopeptidase-Aktivität gemessen pro Milliliter Urin stark schwankt. Im vorliegenden Versuch betrug der Variationskoeffizient der AAP (mU/ml) VC = 49 %. In der Annahme, daß unterschiedliche Volumenaktivitäten in erster Linie durch den Grad der Verdünnung zu erklären seien, wurde durch Multiplikation mit dem Urinvolumen die ge-

samte Enzymausscheidung pro Sammelperiode ermittelt (VC = 35 %). Weiterhin ist es möglich, die Alanin-Aminopeptidase auf andere im Urin ausgeschiedene Substanzen, z.B. Kreatinin, zu beziehen. Dies war hier möglich, da bei keiner Versuchsperson eine Einschränkung der Kreatininelimination bekannt war. Die Abbildungen 2 und 3 zeigen, daß sowohl AAP- und Kreatininausscheidung als auch AAP- und Kreatininkonzentration im Urin korrelieren (r = 0,68 bzw. r = 0,93).

Versuchsreihe I:
Einfluß von Ceftizoxim auf die gemessenen Parameter

Wie Tabelle 3 und Abbildung 4 darstellen, war bei keinem der Probanden unter Gabe von Ceftizoxim eine über die normale Variationsbreite hinausgehende Veränderung der Urinausscheidung pro Tag festzustellen.

Die mittlere Alanin-Aminopeptidase-Aktivität pro Milliliter Harn (siehe Tab.4 und Abb.4) blieb am ersten Behandlungstag relativ konstant verglichen mit den beiden Vorwerten, sank jedoch an Tag I,2 um etwa 32 %. Die Werte an den Tagen I,3 bis I,6, an denen kein Medikament verabreicht wurde, waren wiederum mit den Ausgangswerten vergleichbar. Da Ceftizoxim eine kurze Halbwertszeit von ca. 1,4 Stunden hat (92) und seine renale Clearance etwa der endogenen Kreatinin-Clearance entspricht (16), kann der AAP-Aktivitätsverlust nicht durch eine Kumulation der Substanz erklärt werden. Zudem war eine Beeinflussung der AAP-Bestimmung durch Ceftizoxim in in-vitro Versuchen ausgeschlossen worden. Die Messung der Urinproben beider Untergruppen wurde an verschiedenen Tagen durchgeführt, es ist unwahrscheinlich, daß das Ergebnis durch einen gerichteten Meßfehler beeinflußt wurde.

Da die Urinvolumina über die Versuchsreihe hinweg nahezu konstant blieben, glich der Verlauf der pro Sammelperiode ausgeschiedenen AAP-Menge dem der AAP-Konzentration.

CUTLER et al. (16) beschrieben, daß Ceftizoxim primär durch glomeruläre Filtration mit einem geringen Nettotransport durch die proximalen Tubuluszellen aus dem Serum eliminiert wird. Die AAP-Konzentrationen im Urin nach Gabe von 2 x 3 g Ceftizoxim an zwei Behandlungstagen sprach gegen eine ausgeprägte tubuläre Rückresorption mit anschließender Sekretion des Antibiotikums. Offensichtlich wurden keine für die proximalen Tubuluszellen toxischen intrazellulären Konzentrationen erreicht.

Dem Ceftizoxim vergleichbare Alanin-Aminopeptidase-Verläufe wurden bei Cephalothin (41), Cefamandole (60) und Cefotaxim (57) gefunden, während nach der Gabe von Cephacetril ein Teil der Probanden mit gesteigerter Enzymurie reagierte (60).

Anhand der oben dargestellten Versuchsergebnisse kann nicht auf einen nephrotoxischen Effekt des Ceftizoxims geschlossen werden.

Versuchsreihe II:
Urinvolumina und Enzymausscheidung nach Gabe von Azosemid bzw. Azosemid und Ceftizoxim

Die Urinvolumina stiegen nach Injektion von 20 mg Azosemid i.v. im Mittel um etwa 100 % an, die Versuchspersonen P_1, P_3 und P_5 sammelten beinahe die dreifache Urinmenge im Vergleich zu den Vortagen. (siehe Tab. 3). Die während des Versuches maximale Urinausscheidung zeigte sich bei fünf Probanden an Tag II,1; Proband P_5 erreichte sein Maximum an Tag II,2. Außer bei der sechsten Versuchsperson fiel

das Urinvolumen am ersten Tag nach Medikation (Tag II,4) unter den Ausgangswert ab; bei Proband P_6 verschob sich dieser Rebound um 24 Stunden. Eine prolongierte Wirkung des Azosemid muß diskutiert werden.

Die Alanin-Aminopeptidase-Konzentration sank unter dem Einfluß von 20 mg Azosemid i.v. auf etwa 50 % des Ausgangswertes, wobei minimale Enzymaktivitäten an Tag II,2 bzw. II,3 gemessen wurden. An Tag II,4 stieg die AAP-Aktivität wieder an, der Ausgangswert wurde erst am zweiten Tag nach Applikation (Tag II,5) wieder erreicht.

Betrachtet man die AAP-Ausscheidung pro Tag, so wurden maximale Mengen bis zu 4405 mU/24h am ersten Behandlungstag ausgeschieden. Im weiteren Verlauf sank die AAP-Ausscheidung, am dritten Behandlungstag war das Ausgangsniveau erreicht und an den Tagen II,4 bis II,6 wurden minimale Werte gemessen. Die Zunahme der absolut ausgeschiedenen Alanin-Aminopeptidase zeigte, daß es sich bei den niedrigen AAP-Konzentrationen unter Azosemid um einen Verdünnungseffekt handelte. Ein linearer Zusammenhang zwischen AAP-Elimination und Diurese konnte für Versuchstag II,1 bestätigt werden (siehe Tab.6 und Abb.6). Alle Versuchspersonen wiesen an diesem Tag maximale AAP-Ausscheidung bei maximalen Urinvolumina auf (siehe Tab.7 und Abb.7).

Die gesteigerte Harnenzymausscheidung unter Azosemid, die auch für andere Schleifendiuretika beschrieben wurde (57), ist nicht als nephrotoxischer Substanzeffekt zu werten. Die AAP-Elimination korreliert offenbar mit dem Funktionszustand der Nieren. Nach Applikation eines Schleifendiuretikums werden im Gegensatz zur Antidiurese alle Nephren durchspült, so daß an der Zelloberfläche lokalisierte Bürstensaumenzyme "ausgewaschen" werden. Zusätzlich steigt bei erhöhtem renalem Blutfluß die physiologische Zellmauserungs-

rate der proximalen Tubuluszellen. Veröffentlichungen jüngeren Datums (91) weisen auf die Möglichkeit der adsorptiven Pinozytose von Proteinen durch die Zellen der distalen Tubuli hin. Es ist zu prüfen, ob auch das Glykoprotein Alanin-Aminopeptidase einem derartigen Prozeß unterliegt, denn im Vergleich zur Antidiurese wäre bei vermehrtem Durchfluß das Ausmaß der Anlagerung von Proteinmolekülen an die Membranen der distalen Tubuluszellen geringer, so daß mehr AAP im Urin aufzufinden wäre. PASTERNAK et al. (65) fanden nach Gabe von Furosemid eine gesteigerte glomeruläre Permeabilität für Makromoleküle. Nimmt man einen ähnlichen Wirkungsmechanismus bei Gesunden für Azosemid an, kann nicht ausgeschlossen werden, daß teilweise Serum-Enzymaktivität im Urin gemessen wurde. Da eine bedeutsame Proteinurie mit Multistix ausgeschlossen wurde, handelte es sich jedoch allenfalls um einen geringen Teil der gemessenen AAP-Ausscheidung.

Nach Applikation von 2 x 3 g Ceftizoxim zusätzlich an den Versuchstagen II,2 und II,3 nahm die AAP-Ausscheidung im 24h-Sammelurin ab. Dies ist nicht als Wirkung des Antibiotikums zu bewerten, sondern kann teilweise durch die leicht zurückgegangene Diurese erklärt werden. Zudem muß sich die am Vortag vermehrt eliminierte Bürstensaummembranfraktion erst regenerieren. Dafür spricht, daß die gemessenen AAP-Konzentrationen nach den drei Behandlungstagen erst allmählich ansteigen und die AAP-Ausscheidung im Sammelurin bis zum Tag II,6 deutlich vermindert ist.

Ein nephrotoxischer Effekt von Ceftizoxim konnte anhand der vorliegenden Ergebnisse auch in Kombination mit Azosemid nicht nachgewiesen werden.

Nierenfunktionsparameter:

Die gemessenen Nierenfunktionsparameter Harnstoff und Kreatinin im Serum sowie die Kreatinin-Clearance ergaben keinen Hinweis auf eine Nierenfunktionseinschränkung während oder nach Behandlung mit Ceftizoxim und Azosemid. Die niedrigen Kreatinin-Clearance-Werte, die im Verlauf der zweiten Versuchsreihe vereinzelt gemessen wurden, sind für Schleifendiuretika, z.B. 20 mg Furosemid i.v., in der Literatur erläutert worden (57).

Tagesprofile der AAP-Ausscheidung und des Harnminutenvolumens:

Um tageszeitliche Schwankungen der Alanin-Aminopeptidase-Elimination unter den verschiedenen Versuchsbedingungen zu erfassen, wurde der Urin an drei Versuchstagen (Tag I,1; II,1 und II,2) in zwei- und vierstündigen Sammelperioden gesammelt (siehe Tab.9 und Tab.10 sowie Abb.8). Zum Vergleich wurde der Urin zweier gesunder männlicher Personen, die keine der Testsubstanzen erhalten hatten, untersucht. (siehe Tab.11 und Abb.9).

An Tag I,1 unter 2 x 3 g Ceftizoxim blieb das Harnminutenvolumen über den Beobachtungszeitraum annähernd konstant. Die größte mittlere AAP-Ausscheidung erfolgte zwischen der zweiten und vierten Stunde nach der Kurzinfusion, die individuellen Maxima der AAP-Aktivität variierten jedoch zwischen 2 und 12 Stunden nach der Infusion. Die beiden gesunden Kontrollpersonen zeigten ein ähnlich konstantes Harnminutenvolumen und eine deutlich erhöhte AAP-Aktivität in der zweiten Sammelperiode, d.h. zwischen $9^{\underline{00}}$ und $11^{\underline{00}}$ Uhr am Vormittag. Das Tagesprofil der

AAP-Ausscheidung nach Gabe von Ceftizoxim weist demnach nicht auf einen pharmakotoxischen Effekt an den proximalen Nierentubuli hin, sondern die Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung unterliegt einer circardianen Rhythmik, die auf einer periodischen Änderung der Zellmauserungsgeschwindigkeit beruht (70).

Unter dem Einfluß von 20 mg Azosemid i.v. (Tag II,1) bzw. 20 mg Azosemid plus 2 x 3 g Ceftizoxim ergaben sich nahezu identische Kurvenverläufe. Maximale Urinvolumina wurden in der ersten, z.T. auch erst in der zweiten Sammelperiode ausgeschieden, dies entspricht dem Wirkungsprofil des Schleifendiuretikums Azosemid. Die Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung pro Minute korrelierte mit dem Harnminutenvolumen, wie dies auch bei Wasserdiurese der Fall ist (6).

Alanin-Aminopeptidase-Aktivitäten, die als Zeichen einer Nephrotoxizität anzusehen wären, wurden zu keinem Zeitpunkt des Versuches gemessen.

Z U S A M M E N F A S S U N G :

In der vorliegenden Arbeit wurde sechs gesunden männlichen Versuchspersonen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen 2 x 3 g Ceftizoxim / Tag appliziert. In einer zweiten Versuchsreihe erhielten die gleichen Probanden an einem Vortag und an den beiden Behandlungstagen zusätzlich 20 mg Azosemid i.v.

Ziel der Untersuchungen war es, nephrotoxische Effekte der Einzelsubstanzen sowie der Kombination von Ceftizoxim und Azosemid zu erfassen. Gemessen wurde die Alanin-Aminopeptidase-Aktivität im Sammelurin während des gesamten Versuches mit einer enzymatischen Bestimmungsmethode. Für einzelne Urinproben wurde ein immunologisches Nachweisverfahren angewandt.

Vor und nach der Gabe von Ceftizoxim zeigten Urinvolumen, AAP-Konzentration (mU/ml) und AAP-Ausscheidung (mU/24h) annähernd konstante Werte. Die Tagesprofile des Harnminutenvolumens und der Enzymausscheidung pro Minute nach Therapie unterschieden sich nicht von den Kurven zweier Kontrollpersonen ohne Medikation.

Eine einmalige Injektion von 20 mg Azosemid verursachte eine deutliche Zunahme der Diurese begleitet von einer verminderten AAP-Konzentration, aber einer gesteigerten Gesamtausscheidung des Enzyms pro Sammelperiode. Als Ursache der Enzymurie wurde ein vermehrter Durchfluß durch alle Nephren ("Auswascheffekt") sowie eine gesteigerte Zellmauserungsrate der proximalen Tubuluszellen angenommen. Die Tagesprofile der AAP-Ausscheidung unter Azosemid zeigten zum gleichen Zeitpunkt wie die Kontrollgruppe deut-

lich höhere maximale Enzymaktivitäten. Die Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung pro Minute korrelierte mit dem Harnminutenvolumen.

Nach Applikation von je 2 x 3 g Ceftizoxim und 20 mg Azosemid an zwei Behandlungstagen wurden keine zusätzlichen Enzymaktivitätsanstiege im Sinne eines nephrotoxischen Effektes der beiden Pharmaka beobachtet. Dagegen traten Enzymaktivitätsverluste, die durch einen Ragenerationsvorgang an der Bürstensaummembran der proximalen Nierentubuli zu erklären waren, auf.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse wiesen auf eine Korrelation zwischen den Urinvolumina und der ausgeschiedenen Alanin-Aminopeptidase hin. Außer dem Urinvolumen und der Urinsammelperiode wurde die Kreatinin-Ausscheidung und die Kreatinin-Konzentration im Urin als Bezugsgrößen zur Beurteilung der AAP-Ausscheidung dargestellt.

Eine toxische Schädigung der Zellen der proximalen Tubuli, die einen Aktivitätsanstieg des Bürstensaummembranenzyms Alanin-Aminopeptidase zur Folge gehabt hätte, konnte bei keiner der Versuchspersonen sowohl nach Gabe von Ceftizoxim alleine als auch nach zusätzlicher Behandlung mit Azosemid festgestellt werden.

L I T E R A T U R :

1) H.Bergmann, F.Scheler,
Der Nachweis tubulärer Funktionsstörungen der Niere durch Bestimmung der Aminopeptidase-Aktivität im Harn
Klin.Wschr. 42, 275-278 (1964)

2) H.Bergmann, F.Truss,
Harnenzyme als Indikatoren tubulärer Nierenschäden
Med.Welt 34, 1760-1764 (1964)

3) H.Bergmann, F.Truss, K.Zieb,
Erfassung akuter Nierenschäden durch fermentchemische Untersuchungen
Verh Deut.Ges.Urol. 21, 197-203 (1966)

4) D.C.Brater
Renal sites of action of azosemide
Clin.Pharmacol.Ther. 25,428-434 (1979)

5) D.C.Brater, S.A.Anderson, S.Strowin,
Azosemide, a "loop" diuretic, and furosemide
Clin.Pharmacol.Therap. 25, 435-439 (1979)

6) J.Breier,
Untersuchungen über die Wirkung der Aminoglykoside Gentamycin und Tobramycin auf die Enzyme des proximalen Tubulus der menschlichen Niere
Dissertation Frankfurt (1979)

7) U.Burchardt,
Alaninaminopeptidaseausscheidung mit dem Harn und osmotische Nephropathie
Zschr.Inn.Med 30, 65-68 (1975)

8) U.Burchardt, A.Hempel, J.B.Höpfner, R.D.Hempel,
Alaninaminopeptidase- und Kreatininausscheidung unter verschiedenen Diuresezuständen beim Menschen
Zschr.ges.innere Med. 31, 550-552 (1976)

9) U.Burchardt, B.Miesel,
Alaninaminopeptidaseausscheidung mit dem Harn in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht
Zschr.Inn.Med. 32, 319-321, (1977)

10) U.Burchardt, J.E.Peters,
Enzyme im Harn nach Applikation hypertoner Lösungen
Zschr.Inn.Med 30, 248-251 (1975)

11) U.Burchardt, J.E.Peters, E.Mampel,
Zum gegenwärtigen Stand der Harnenzymdiagnostik
Z.Ärztl.Fortbildung 69, 619-623 (1975)

12) U.Burchardt, G.Schinköthe, G.Müller, L.Neef, H.Krosch,
Ausscheidungskinetik von Enzyman und Protein mit dem Harn bei Applikation therapeutischer Gentamycindosen
Schweiz.Med.Wschr. 108,1541-1545 (1978)

13) M.B.Burg
Tubular chloride transport and the mode of action of some diuretics
Kidney international 9, 189-197 (1976)

14) Burton, N.S.Lichtenstein, R.B.Colvin, N.E.Hyslop,
Acute renal failure during cephalothin therapy
JAMA 229, 679-682 (1974)

15) C.P.Carling, B.A.Idelson, A.A.Casans, A.A.Alexander, W.R.McCabe
Nephrotoxicity associated with cephalothin administration
Arch.Intern.Med. 135, 797-801 (1975)

16) R.E.Cutler, A.D.Blair, E.D.Burgess, D.Parks
Pharmacokinetics of Ceftizoxime
J.of Antimicrob.Chemother. 10, Suppl.C, 91-97 (1982)

17) M.G.Dodds, R.D.Foord
Ehnancement by potent diuretics of renal tubular necrosis induced by cephaloridine
Br.J.Pharmacol. 40, 227-237 (1970)

18) U.C.Dubach
Quantitative Histochemie der Niere
Klin.Wschr. 41, 157-162 (1963)

19) U.C.Dubach
Verhalten von Enzymen in Nierengewebe, Urin und Serum nach toxischer Schädigung des Nephrons an der Ratte
Enzym.biol.clin. 8, 401-412 (1967)

20) J.Dubb, P.Actor, D.Pitkin, F.Alexander, R.Familiar, S.Ehrlich
Ceftizoxime Kinetics and renal Handling
Clin.Pharmacol.Ther. 31, 516-521 (1982)

21) H.U.Eichenberg, L.Scharfenberger, N.G.Watermann
Concentration of antibiotics in renal interstitial fluid, soft tissue interstitial fluid, urine and serum
Infection 4, Suppl 2, 97-102 (1976)

22) B.Farber, R.C.Moellering
The third Generation Cephalosporins
Bull.N.Y.Acad.Med. 58/8 696-710 (1982)

23) M.N.Green, K.C.Tsou, R.Bressler, A.M.Seligman
The colourimetric dtermination of leucine aminopeptidase activity with L-leucyl-beta-naphthylamide hydrochloride

24) H.Grötsch, G.Berscheid, H.G.Grigoleit, E.E.Dagrosa, H.K.L.Hundt
Alanine-aminopeptidase-activity as an indicator of nephrotoxicity
IRCS medical Science, 9, 422 (1981)

25) G.Grosse, G.A.Neuhaus
Aminopeptidase-Aktivität im Urin bei Patienten mit Hypnotika-Intoxikationen und unter Bedingungen der Vita reducta
Klin.Wschr. 48, 978-985 (1970)

26) H.Haschek, P.Porpáczy
Therapeutische und toxikologische Probleme in der Behandlung unspezifischer Harnwegsinfektionen bei eingeschränkter Nierenfunktion
Wien.Klin.Wschr. 80,769-777 (1968)

27) R.J.Haschen
Alanin-Aminopeptidasen, Biochemie und diagnostische Bedeutung
Leipzig (1972)

28) H.Hasskarl
Arzneimittelgesetz und klinische Prüfung aus juristischer Sicht
Klinikarzt 7, 532-534 (1978)

29) H.Heller
Über die Bedeutung von Enzymbestimmungen im Harn für die Diagnose und Verlaufskontrolle renaler Erkrankungen
Med.Klin. 65, 1480-1484 (1970)

30) L.J.Heuer, E.Schulz, H.A.Wester, A.Kleinschmidt
Wirkung des Diuretikums Azosemid auf die renale Ausscheidung von Wasser und Elektrolyten bei kardial dekompensierten Patienten
Therapiewoche 30, 5752-5759 (1980)

31) M.Hohenegger, W.Raab
Das Verhalten der Enzymaktivitäten im Harn bei Veränderung der Wasser- und Ionenausscheidung
Clin.Chimica Acta 28, 61-65 (1970)

32) W.Jösch, U.C.Dubach
Einfluß der Diurese auf die Enzymurie
Clin.Chim.Acta 15, 325-330 (1967)

33) W.Jösch, U.C.Dubach
Der Einfluß des Urin-pH auf die Aktivität von Urinenzymen
Experientia 23, 342-343 (1967)

34) E.Jungmann, A.W.Mondorf, J.E.Scherberich, R.K.Sperzel
Schädigung des tubulären Apparates der Niere bei pathologischer Glukosetoleranz
Münch.Med.Wschr. 124, 231-233 (1982)

35) Y.Kao, W.L.Starnes, F.J.Behal
Human Kidney Alanine Aminopeptidase
Biochemistry 17, 2990-2994 (1978)

36) E.Kemp, T.Laursen
Investigations of the excretion of enzymes in urine
Scand.J.Clin. Lab. Invest. 12, 463-471 (1960)

37) R.Kinne, E.Kinne-Saffran
Isolierung und enzymatische Charakterisierung einer Bürstensaumfraktion der Rattenniere
Pflügers Arch. 308, 1-15 (1969)

38) D.Klaus
Über Aminopeptidasen im menschlichen Oraganismus
Ärztl.Forsch. 16, 9-23

39) H.Kleinsorge
Erstanwendung von Pharmaka an Menschen
Med.Klin. 71, 1093-1108 (1976)

40) H.Kleinsorge
Arzneimittelgesetz und klinische Prüfung aus medizinischer Sicht
Klinikarzt 7, 529-531 (1978)

41) J.Klose
Untersuchung der Ausscheidung von Leitenzymen des proximalen Tubulus der menschlichen Niere im 24h-Urin unter Gabe von Cephalothin, Cephazolin und Fafomycin
Dissertation Frankfurt (1980)

42) H.Knothe
Tabellarium der Chemotherapie
Aesopos Verlag, Basel (1978)

43) H.Knothe
Grundsätze der Chemotherapie
Skriptum Frankfurt (1982)

44) R.Kolb, C.Mautner Markhof, F.Zekert
Verhalten von Harnenzymen nach Vitamin A, Gentamycin und Klemmung der Nierenarterien
Wien.Klin.Wschr. 88, 463-468 (1976)

45) F.Krück, W.Bablok, E.Besenfelder, G.Betzien, B.Kaufmann
Clinical and pharmacological investigations of the new saluretic azosemide
Eur.J.Clin.Pharmacol. 14, 153-161 (1978)

46) D.H.Lawson, R.F.Macadam, H.Singh, H.Gavras, S.Hartz, D.Turnbull
Effect of Furosemide on antibiotic-induces renal damage in rats
J.Infect.Dis. 126, 593-600 (1972)

47) A.L.Linton, R.R.Bailey, D.I.Turnbull
Relative nephrotoxicity of cephalosporine antibiotics in an animal model"
CMAJ 107,414-416 (1972)

48) E.Luckmann, F.Körner
Die Leucin-Aminopeptidase im Harn bei Nierenerkrankungen
Klin.Wschr. 50, 1003-1008 (1972)

49) D.Maruhn, I.Fuchs, G.Meus, H.D.Bock
Normal limits of urinary excretion of eleven enzymes
Clin.Chem. 22, 1567-1574 (1976)

50) H.Mattenheimer
Enzymes in urine
Med.Clin.North America 55, 1493-1506 (1971)

51) H.Mattenheimer
Enzymes in renal diseases
Ann.Clin.Lab.Sci. 7/5, 422-432 (1977)

52) A.W.Mondorf
Enzymologie der Niere

53) A.W.Mondorf
Die Bedeutung lokalisationsspezifischer Enzyme im Harn für toxikologische und klinisch pharmakologische Untersuchungen
Arzneimittel Forschung 23, 1634-1637 (1973)

54) A.W.Mondorf
Harnenzyme--Charakterisierung und diagnostische Anwendung
Münch.Med.Wschr. 124, 230, (1982)

55) A.W.Mondorf
Nephrotoxicity of Cefotaxime
The Lancet 13, 799 (1979)

56) A.W.Mondorf, J.Breier, J.Hendus, J.E.Scherberich, G.Mackenrodt, P.M.Shah, W.Stille, W.Schoeppe
Wirkungen der Aminoglykoside auf den proximalen Tubulus der menschlichen Niere
Eur.J.Clin.Pharmacol. 13, 133-142 (1978)

57) A.W.Mondorf. P.Burk, P.Burk, T.Stefanescu, J.E.Scherberich, W.Schoeppe,
Effects of Cephalosporins on the proximal tubule of human kidney
Genf (1980)

58) A.W.Mondorf, R.Kinne, J.E.Scherberich, F.Falkenberg
Isolierung, enzymatische und immunologische Charakterisierung einer Plasmamembranfraktion vom proximalen Tubulus der menschlichen Niere
Clin.Chim.Achta 37, 25-32 (1972)

59) A.W.Mondorf, G.Mackenrodt, J.E.Scherberich, K.Lauer, N.Zarifi W.Schoeppe
Ausscheidungsmuster von Zellmembranprotein an dem proximalen Tubulus bei Pyelonephritis und toxischer Nierenschädigung
Verh.dt.Ges.inn.Med. 80, 777-779 (1974)

60) A.W.Mondorf, M.Zegelman, J.Klose, J.Hendus, J.Breier
Comparative studies on the action of aminoglycosides and cephalosporines on the proximal tubule of human kidney
J.Antimicrob.Chemother. 4, 53-57 (1978)

61) A.W.Mondorf, M.Zegelman, J.Klose, L.Maske, J.E.Scherberich, T.Stefanescu, H.Müller, W.Schoeppe
Effect of various cephalosporines on the proximal tubule of human kidney
Eur.J.Clin.Pharmacol. 13, 357-363 (1978)

62) A.W.Mondorf, M.Zegelman, G.Mackenrodt
Die klinisch diagnostische Bedeutung lokalisationsspezifischer Enzyme im Harn
Infect. 4/3, 269-271 (1976)

63) C.H.Nightingale, R.Quintilani
Competitive pharmacokinetics of ceftizoxime and other third generation cephalosporines in humans
J.Antimicrob.Chemother. 10/C, 99-104 (1982)

64) K.Nomiyama, A.Yamamoto, C.Sato
Assay of urinary enzymes in toxic nephropathy
Toxicol.Appl.Pharmacol. 27, 484-490 (1974)

65) A.Pasternack, E.Petterson, M.Klockars
Effect of furosemide on the urinary excretion of some plasma proteins
Nephron 22, 551-557 (1978)

66) D.P.Pasternak, B.G.Stephens
Reversible nephrotoxicity associated with cephalothin therapy
Arch.Int.Med. 135, 559-602 (1975)

67) J.E.Peters, E.Mampel, I.Schneider, U.Burchardt, E.Fukala, I.Ahrens, R.J.Haschen
Alaninaminopeptidase im Harn bei Nierenerkrankungen
Clin.Chim.Acta 37, 213-223 (1972)

68) J.E.Peters, N.Rehfeld, L.Beier, R.J.Haschen
Immunologische Charakterisierung der Isoenzyme der AAP
Clin.Chim.Acta 19, 277-286 (1968)

69) J.E.Peters, N.Rehfeld, I.Schneider, H.Barke, R.J.Haschen
Abgrenzung der Nieren- und Serumfraktion der AAP
Clin.Chim.Acta 24, 314-315 (1968)

70) J.E.Peters, I.Schneider, R.Haschen
Bestimmung der L-Alanyl-Peptidhydrolase im menschlichen Harn
Clin.Chim.Acta 36, 289-293 (1972)

71) J.E.Peters, H.Thulin, G.Wilhelm
Der Einfluß von Blutzellen im Harn auf die Aktivität von Harnenzymen
Zschr.Urol. 67, 801-805 (1974)

72) W.Raab
Diagnostic value of urinary enzyme determinations
Clin.Chem. 18/1, 5-25 (1972)

73) W.Raab
Analgetika und renale Enzymausscheidung: Harnenzymausscheidung bei Ratten nach Verabreichung von hohen Dosen Acetylsalicylsäure
Clin.Chim.Acta 22, 535-543 (1968)

74) W.Raab
Experimentelle Untersuchungen über Veränderungen der Leucinaminopeptidase-Aktivität des Harnes
Wien.Klin.Wschr. 78, 364-369 (1966)

75) W.Raab
Enzymaktivitäten im Harn nach Auslösung allergischer Reaktionen
Wien.Klin.Wschr. 81, 31-35 (1969)

76) W.Raab, M.Hohenegger
Renale Enzymausscheidung bei Ratten nach hohen Dosen von Penicillin, Kanamycin und Sulfonamiden
Clin.Chim.Acta 20, 95-103 (1968)

77) W.Reitinger, A.W.Mondorf, J.E.Scherberich, B.Koser, H.M.Schröder W.Schoeppe
Das Auftreten tubulärer Zellmembranantigene im Harn bei akuter und chronischer Glomerulonephritis

78) K.Sack
Differenzierung der Nierenverträglichkeit verschiedener Cephalosporine im Tierexperiment
Infection 4/3, 237-245 (1976)

79) J.E.Scherberich, F.W.Falkenberg, A.W.Mondorf, H.Müller, G.Pfleiderer
Biochemical and immunological studies on isolated brush border membranes of human kidney cortex and their membrane surface proteins
Clin.Chim.Acta 55, 179-197 (1974)

80) J.E.Scherberich, A.W.Mondorf
Excretion of kidney brush border antigens as a quantitative indicator of tubular damage
J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 16,3 (1978)

81) Scherberich, A.W.Mondorf, R.Jost
Zur Differenzierung von Aminopeptidasen im Urin mit Hilfe eines synthetischen Tripeptids
Klin.Wschr. 54, 1193-1195 (1976)

82) K.Sack, A.Lepere, G.Schwieder
Nierenverträglichkeit von Cephalosporinantibiotika
Med.Welt 29, 1233-1236 (1978)

83) W.Siegenthaler, H.Lode
Klinische Antibiotika-Therapie
Dt.Ärzteblatt 11, 501-502 (1981)

84) C.Simon, W.Stille
Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis
Stuttgart (1970)

85) W.Stille, I.Arndt
Argumente gegen eine Nephrotoxizität von Cephalothin und Gentamycin
Med.Welt 23, 1603-1605 (1972)

86) M.Werner, D.C.Hielbron, D.Maruhn, M.Atoba
Patterns of urinary enzyme excretion in healthy subjects
Clin.Chim.Acta 29, 437-449 (1970)

87) A.Whelton, W.G.Walker
Intrarenal antibiotic distribution in health and disease
Kidney Int. 6 (1974)

88) F.Zekert, C.Mautner-Markhof
Untersuchungen über die normale Enzymausscheidung im Harn bei Mensch und Ratte
Wien.Klin.Wschr. 14, 467-468 (1976)

89) M.Zegelman
Untersuchungen der Harnenzymaktivitäten dreier Leitenzyme des proximalen Tubulus der Niere zur Frage der Nephrotoxizität von Cephacetril, Cephalothin und Cephazolin
Frankfurt a.M. (1978)

90) D.Zurwehme
Ausscheidung der Aminopeptidase im Harn nach intravenöser Gabe von Röntgenkontrastmitteln
Med.Klin. 61, 1458-1461 (1966)

91) K.M.Madsen, R.H.Harris, C.C.Tisher
Uptake and intracellular distribution of ferritin in the rat distal convoluted tubule
Kidney Int. 21, 354-361 (1982)

92) verschiedene Autoren
Exposé über Ceftizoxim (FK 749)
Boehringer Mannheim

93) verschiedene Autoren
Exposé über Azosemide intravenös
Boehringer Mannheim

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel

> Untersuchung der Nephrotoxizität von Ceftizoxim in Kombination mit Azosemid anhand der Alanin-Aminopeptidase-Ausscheidung im Urin

im Zentrum für Innere Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Professor Dr.med. A.W.Mondorf mit Unterstützung durch Frau H.Müller ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich Humanmedizin ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Patricia Lesinger

Frankfurt am Main, 1983

L E B E N S L A U F

1959	am 24.Juli, geboren als Tochter des Diplom-Bauingenieurs Horst Usinger und seiner Ehefrau Edith, geborene Zerbe, in Eppstein/Ts.
1966	Einschulung in die Freiherr-vom-Stein-Schule in Eppstein
1968	Wechsel zum Helene-Lange-Gymnasium in Frankfurt a.M.-Höchst
1974	Eintritt in das Oberstufengymnasium im Bildungs- und Kulturzentrum Frankfurt a.M.-80
1976	Abiturprüfung
1977	Aufnahme als Stipendiatin der Studienstiftung des deutschen Volkes Immatrikulation am Fachbereich Humanmedizin der J.W.Goethe-Universität, Frankfurt a.M.
1979	Ärztliche Vorprüfung
1980	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1982	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Praktisches Jahr am Städtischen Krankenhaus Frankfurt a.M.-Höchst
1983	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1983	am 2. Mai, Approbation als Ärztin

Patricia Usinger

Eppstein, 1983